طبعة ملونة

علم الوراثة

الدكتور

عبد الحسين الفيصل





اليازوري

www.yazory.com

وراثة الإنسان

تأليف
د. عبد الحسين الفيصل



المحتويات

مقدمة الكتاب

إن التطور في الأجهزة والمواد اللازمة في حقل علم الوراثة والعلوم التي لها علاقة وطيدة ساهمت كثيراً في إلقاء الضوء حول أهمية هذا العلم وارتباطه بشكل مباشر في الكثير من الأمراض والتناذرات والتشوهات الخلقية. ويمكن ملاحظة هذا الارتباط من خلال الأعداد المتزايدة من الأبحاث العلمية التي تنتشر كل يوم والتي تبرهن ارتباط أمراض معينة أو تناذرات بتشوهات وراثية على مستوى المورثات أو الكروموسومات.

لقد أدى التراكم الهائل لمعارف الوراثة والطب إلى وجود اعتبار الوراثة جزء لا يتجزأ من عمل الأطباء وتخصص العديد منهم الآن في الوراثة لغرض تشخيص الحالات المرضية المرتبطة بالوراثة وكذلك لتقديم الاستشارة الطبية اللازمة. لذلك فإن من الضروري أن يحيط الأطباء ودارسي الطب بالوراثة الطبية وكيفية تحليل الأمراض وراثياً لتوفير عوناً إضافياً للفحوصات الطبية المختبرية وغيرها لمحاصرة الأمراض وكشف أسبابها لتسهيل التعامل معها ومكافحتها.

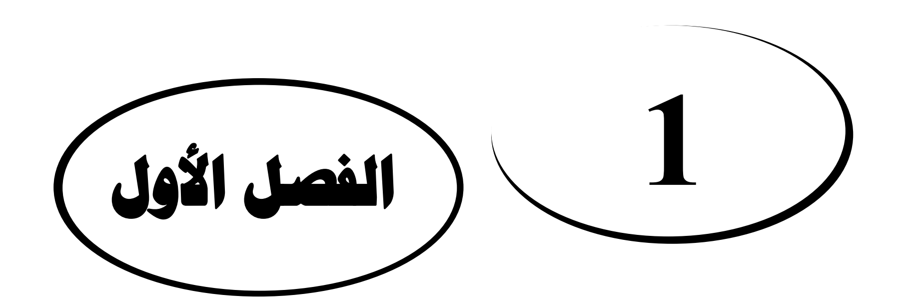
لقد جائت فكرة هذا الكتاب نتيجة عدم وجود مصادر علمية عربية تقدم هذا العلم للباحثين والطلبة وغيرهم وقد حرصنا كل الحرص على تضمينه طرق تحليل الأمراض الوراثية وتحديد منشأها الوراثي وكذلك أساليب بناء الأشجار الوراثية العائلية وطرق التحليل الوراثي الجزيئي لهذه الأمراض والآليات الوراثية والخلوية التي تحكم عدداً كبيراً من الأمراض والتناذرات والتشوهات الخلقية.

ولذلك فإننا نرجو أن يكون هذا الكتاب عوناً لكل من يهمه معرفة الوراثة الطبية ومصدراً علمياً للمكتبة العربية.

وختاماً أقدم شكري وتقديري لكل من قدم عوناً لتقديم هذا الكتاب

ومن الله التوفيق

د. عبد الحسين الفيصل
بغداد
2005/5/4


1
الفصل الأول


الفصل الأول
أساسيات الوراثة
Principles of Genetics

الفصل الأول

أساسيات الوراثة

Principles of Genetics

أثبتت الأبحاث العلمية التي توالت منذ العام 1900 حتى الآن بطريقة التوارث التي نشرها العالم يوهان مندل منذ عام 1866 هي طريقة كونية تشمل جميع الكائنات الحية وتخضع لها جميع الصفات الوراثية المرتبطة بموروث مفرد.

استنتج مندل من جميع تجاربه التي أجراها على نبات البازلاء Pisum Sativum بأن العوامل (الموروثات Genes) المسؤولة عن الصفات موجودة على هيئة مفردة في كل من الخلايا الجنسية الذكرية والأنثوية. تلتقي هذه بعد الإخصاب لتصبح مزدوجة ويعتمد تعبيرها على سيادة العامل (Dominant) أو تنحيه
(Recessive). أطلق على هذه العوامل المفردة بالآليات التي تؤلف أزواجها ما يعرف بالموروثات.

كما استنتج بأن انعزال عدة صفات يتم بصورة حرة دون أن يتأثر أحدهما بالآخر. ويلاحظ من هذه الاستنتاجات بأن تلك الملاحظات التي أطلق عليها قوانين مندل تخضع لها الصفات التي يعبر عنها بواسطة مورث مفرد بينما تخضع الصفات التي يعبر عنها بأكثر من مورث لنظم توراث مختلفة.

إن النتائج التي حصل عليها مندل خلال تجاربه تلك بينت بأن الأفراد ذوي الهيئة المظهرية السائدة (Phenotype) لا يملكون هيئة وراثية (Genotype) واحدة بل هيئتان هما هيئة وراثية مؤلفة من اليلين سائدين (Homozygous) ويرمزلها بحرفين انجليزيين كبيرين مثل DD ويطلق على هؤلاء الأفراد بذوي الصفات السائدة النقية وهيئة وراثية مؤلفة من اليل سائد وآخر متنحي (Heterozygous) (غير متماثلة أو هجينة) ويرمز لها بحرف انجليزي كبير وآخر صغير مثل Dd ويطلق على هؤلاء بذوي الصفات السائدة الهجينة. بينما يظهر الأفراد ذوي الهيئة المظهرية المتنحية متشابهون في الهيئة الوراثية ويرمز لهم بحرفين انجليزيين صغيرين مثل dd.

أظهرت نتائج مندل أيضاً بأن 100% من أفراد الجيل الأول الناتجة من أباء أحدهما بصفة سائدة نقية DD وآخر بصفة متنحية dd تحمل هيئة مظهرية سائدة (بغض النظر عن الهيئة الوراثية) وتختفي تماماً الصفة المتنحية. فيما تنعزل الصفتان مرة أخرى في الجيل الثاني حيث تبلغ نسبة الأفراد بالصفة السائدة حوالي 75% مقارنة مع 25% لأفراد الصفة المتنحية. وتبقى هذه النسبة ثابتة في حالة توارث عدة صفات مندلية في آن واحد.

أما في حالة أن أحد الآباء بصفة سائدة هجينة Dd والآخر بصفة متنحية dd فـإن أفراد الجيل الأول لهما ذات هيئتين متساويتين في النسبة (50% لكل منهما) أحدهما بصفة سائدة والأخرى بصفة متنحية (شكل 1-1)

أب بصفة متنحية dd × DD أب بصفة سائدة نقية الآباء P

Dd

الجيل الأول F1 100% سائد هجين

(Dd) F1 × F1 (Dd)

الجيل الثاني F2 DD : 2Dd : dd

25% متنحي الصفة : أفراد بصفة سائدة 75%

أب بصفة متنحية dd × Dd أب بصفة سائدة هجينة الآباءP

الجيل الأول F1 2Dd : 2dd

50% متنحية : 50 % سائدة الصفة

شكل 1-1 : طريقة توارث الصفات المندلية

واستناداً إلى نتائج مندل فإن الآليات أثناء الانقسام الاختزالي تتوزع بصور حرة على الخلايا الجنسية الناتجة وفرصة حصول كل من الخلايا على اليل معين تكون متساوية وهوما ينطبق تماماً مع نظرية الاحتمالات الرياضية التي تنص على أن فرصة حدوث حدثين مستقلين أو أكثر في آن واحدتكون متساوية لكل منها وتساوي حاصل ضرب فرصة حدوث كل منها. ويمكن استخدام هذه النظرية للتنبؤ بنتائج توارث أمراض بشرية معينة.

واستناداً لما سبق فإن احتمال الحصول على أفراد بهيئة وراثية معينة يساوي حاصل ضرب فرصة كل اليل من اليلات الهيئة المطلوبة.

فمثلاً في المثال السابق فإن احتمالية الحصول على أفراد بهيئات وراثية Dd يساوي $1/2 \times 1/2 = 1/4$ ونظراً لوجود فردين بهذه الهيئة لذلك فإن الاحتمالية تساوي $1/4 \times 2 = 1/2$. وذلك يعني بأن هناك احتمالية قدرها 50% في الحصول على أفراد بهيئة وراثية غير متماثلة Dd وهو تماماً ينطبق على ما تم الحصول عليه في المثال السابق.

وينطبق قانون الاحتمالات أيضاً في حالة توارث أكثر من صفة واحدة. فمثلاً أن احتمالية الحصول على فرد بهيئة وراثية BBAA (صفتين سائدتين) يساوي $1/2 \times 1/2 \times 1/2 \times 1/2 = 1/16$.

كما يمكن استخدام معادلة مفكوك الحدين في التحليل الوراثي وطبقاً لنظرية الاحتمالات باستخدام المعادلة $(p + q)^n$ حيث أن q , p تمثل احتمال حدوث حدثين مستقلين فيما تمثل n عدد الأحداث.

فمثلاً إن احتمالية حصول زوجين طبيعيين للون البشرة ولكنهما هجينان لصفة الأمهق (الالبينو Albino) على ثلاثة أطفال طبيعيين كالتالي:

P = الشكل الطبيعي   q = الشكل الأمهق   3 = n

$$q^3 + 3pq^2 + 3p^2q + p^3 = (p + q)^3$$

$p^3 = (3/4)^3 = 42\%$ احتمالية الحصول على ثلاثة أطفال طبيعيين.

$3P^2q = 3 \times (3/4)^2 \times 1/4 = 42\%$ احتمالية الحصول على طفلين طبيعيين وثالث أمهق.

$3pq^2 = 3 \times 3/4 \times (1/4)^2 = 14\%$ احتمالية الحصول على طفل طبيعي واحد وطفلين أمهقين.

$q^3 = (1/4)^3 = 2\%$ احتمالية الحصول على ثلاثة أطفال مهق.

السيادة غير التامة Incomplete Dominance

إن كل ما سبق من حديث حول الصفات المندلية يوضح أن هناك سيادة تامة أو تنحي تام للصفات ولا وجود لصفات وسطية. كما تبين لنا مما سبق بأن الهيئات الوراثية للأفراد الناتجة أكثر من الهيئات المظهرية ويرجع ذلك لوجود مورثات الصفة على نفس الموقع في الكروموسومات النظيرة Sister Chromosomes.

في التحليل الوراثي لصفات معينة لوحظ أن أفراد الجيل الأول تحمل صفات وسطية بين الأبوين وتنعزل هذه في الجيل الثاني إلى ثلاثة صفات مظهرية بدلاً من اثنين كما هو الحال في الصفات المندلية. وكذلك وجود ثلاثة هيئات وراثيةأيضاً مما يعني تساوي الهيئات المظهرية مع الهيئات الوراثية. ويرجع ذلك لوجود مورثات الصفات على مواقع مختلفة من الكروموسومات النظيرة. تسمى مثل هذه الصفات أو غيرها من الصفات الشاذة بالصفات ذات السيادة غير التامة.

هنـاك أنـواع مختلفـة مـن السـيادة غيـر التامـة يمكـن مشـاهدتها فـي عـدد مـن الصـفات والأمـراض البشـرية. ففصـائل الـدم مثلاً تبـدي نوعـاً مـن السـيادة غيـر التامة تدعى بشبه السيادة Semidominance حيث تكون فصيلة دم أفراد الجيل الأول خليطة بين فصيلتي دم الآباء (إلا في حالة تشابه فصائل دم الآباء).

A × B فصيلة الدم A I^AI^A × I^BI^B فصيلة الدم B

%100 $4\ I^AI^B$ فصيلة دم الأبناء AB

AB × AB فصيلة الدم AB I^BI^A × I^BI^A فصيلة الدم AB

$I^AI^A : I^BI^B : 2\ I^BI^A$

فصائل الدم AB B A

%50 %25 %25

A × B فصيلة الدم B I^BI^o × I^AI^o فصيلة الدم A

$I^AI^B : I^AI^o : I^BI^o : I^oI^o$

AB A B O

فصائل

%25 %20 %25 %25

A × O فصيلة الدم A I^AI^A × I^oI^o فصيلة الدم O

%100 $4\ I^AI^o$ فصيلة الدم A

B × O فصيلة الدم B I^BI^B × I^oI^o فصيلة الدم O

%100 $4\ I^BI^o$ فصيلة الدم B

AB × O فصيلة الدم AB I^AI^B × I^oI^o فصيلة الدم O

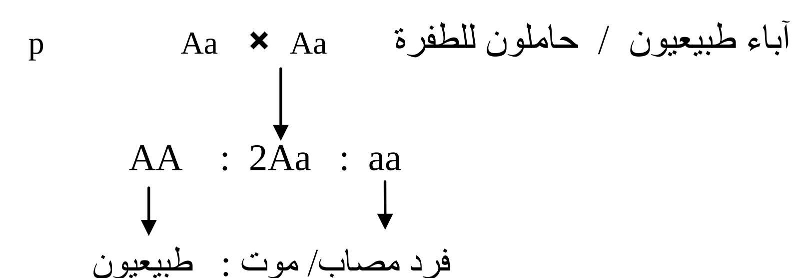
$2\ I^AI^o : 2\ I^BI^o$ فصيلة الدم A

A B

فصائل الدم

%50 %50

أمـا فـي حالـة مـرض عتـة المراهقـة المبكـر Jwvenile Amaurotic Idiocy والذي يظهر بعد سنة من الولادة حيث يحصل انحطاط في القوى العقلية والبصر الذي يؤدي إلى العمـى الكامل ثم الموت قبل سن السابعة وكـذلك مـرض تـاي – سـاجكس Tay – Sachs Disease وأنيميـا كـولي Coley 's Anemia والتي تؤدي إلى الموت المبكر للأطفال فإنها جميعاً تنشأ من توارث نوع من المورثات تدعى بالمورثات المميتة Lethal Genes حيث يؤدي ظهور هذه المورثات بصورة متنحية نقية إلى خطورة الإصابة.



ويلاحظ من الأمراض السابقة ارتباطها مع مورثات مميتة. ويعتقد بأن الكثير من حالات وفيات الأجنة البشرية قبل الولادة تعزى لوجود هذه المورثات.

كما تخضع بعض الصفات البشرية كالصلع وطول الأصابع وقصرها وتوزيع الشعر على الجسم والصفات الجنسية الثانوية كالأثدية إلى تأثير الهرمونات الجنسية. إذ تعمل هذه الهرمونات كمنظمات لبعض المورثات بحيث تتحكم في سيادتها أو تنحيها اعتماداً على جنس الفرد وتدعى تلك المورثات بالمورثات المتأثرة بالجنس.

أنثى طبيعية gg × GG رجل أصلع

الجيل الأول Gg

الإناث طبيعيات والذكور مصابون بالصلع

أنثى طبيعية Gg × Gg رجل أصلع

GG : 2Gg : gg

طبيعي ذكور أو إناث مصابون بالصلع

ذكور مصابون بالصلع وإناث طبيعيات

ويلاحظ من المثال السابق بأن الإناث لا تصاب بالصلع إلا في حالة وجود موروث الصلع بهيئة وراثية نقية وسائدة وهو نادراً ما يحصل.

كما أن ضمور الأثدية عند الذكور ونموها يعتمد أيضاً على مورثات تتأثر بالهرمونات وكالتالي:

أنثى ff × FF ذكر

↓

Ff

الذكور من هؤلاء ضامري الأثدية والإناث نامية الأثدية

ويلاحظ من الأمثلة السابقة بأن للذكور والإناث في الجيل الأول نفس الهيئة الوراثية إلا أنهما يختلفان في الهية المظهرية بسبب تأثير هرمونات الجنس.

ترتبط بعض الأمراض والصفات بأحد كروموسومي الجنس بحيث أن المورثات المسؤولة عن هذه الأمراض أو الصفات موجودة على كروموسوم X أو Y ولا يوجد نظير لها على الكروموسومات الجسمية.

تدعى مثل هذه الأمراض أو الصفات بأنها مرتبطة بالجنس Sex Linkage. تتبع هذه الأمراض أو الصفات نظاماً تصالبياً بحيث يورث الذكور صفاتهم المرتبطة بالجنس إلى أحفادهم من الذكور عن طريق بناتهم أو تتبع نظاماً تبادلياً بحيث تنتقل من أحد الجنسين إلى الآخر.

إن معظم الأمراض المرتبطة بالجنس ترتبط مع كروموسوم X ولا توجد إلا حالات نادرة مرتبطة مع كروموسوم Y.

إن نتائج الصفات المرتبطة بالجنس يعتمد على الأب الذي دخلت صفة المرض عن طريقه وهو ما يختلف عن نتائج الصفات المندلية حيث لا تتأثر فيها صفات إفراد الجيل الأول والثاني بتغير الأب الذي أدخل المرض.

يمكن التعرف على الصفات المرتبطة بالجنس من دراسة سجلات النسب أو العائلة Family Pedigree حيث تظهر هذه الصفات بتكرار أعلى في الذكور عنه في الإناث. كما تنتقل هذه الصفات من الأب إلى أحفاده من الذكور عبر بناته ولا تنتقل إلى أبنائه.

إن الكثير من الأمراض البشرية التي تم دراستها حتى الآن يظهر بوضوح ارتباطها بكروموسوم X مثل تشوه القزحية وتحوصل البشرة وعيوب صمامات القلب واضمحلال العصب البصري والجلوكوما المبكرة وسيولة الدم وقصر النظر وغيرها. هذا إضافة لبعض الصفات البشرية مثل ازدواج الرموش وخصلة الشعر البيضاء.

ويمكن متابعة طريقة التوارث المرتبطة بالجنس بالأمثلة التالية:

1. أم مصابة بعمى الألوان X^rX^r × X^RY^o أي طبيعي البصر.

ذكور مصابة بعمى الألوان $2X^{R}X^{r} : 2X^{r}Y^{o}$ إناث طبيعية / حاملة

2. أم طبيعيـة البصـر / حاملـة لصـفة عمـى الألـوان $X^{R}X^{r} \times X^{R}Y^{o}$ أب طبيعي البصر

$X^{R}X^{R} \; : \; X^{R}X^{r} \; : \; X^{R}Y^{o} \; : \; X^{r}Y^{o}$

ذكر مصاب : ذكر طبيعي : أنثى طبيعية حاملة : أنثى طبيعية البصر

3. أم طبيعية الدم $X^{H}X^{H} \times X^{h}Y^{o}$ أب مصاب بسيولة الدم (الهيموفيليا)
ذكور طبيعية الدم $2X^{H}Y^{o} \; : \; 2X^{h}X^{H}$ إناث طبيعية / حاملة

4. أم حاملة لصفة سيولة الدم $X^{H}X^{h} \times X^{h}Y^{o}$ ذكر مصاب بسيولة الدم

$X^{H}X^{h} \; : \; X^{h}X^{h} \; : \; X^{H}Y^{o} \; : \; X^{h}Y^{o}$

ذكر مصاب : ذكر طبيعي : أنثى مصابة : أنثى طبيعية / حاملة

إن معظم الأمراض المرتبطة بالجنس مثل سيولة الدم وعمى الألوان وغيرها ترتبط كما أسلفنا بكروموسوم X ولا توجد من الأمراض البشرية المعروفة ما هو مرتيط مع كروموسوم Y. إلا أنه توجد بعض الصفات البشرية المميزة التي ترتبط مع هذا الكروموسوم مثل الجلد الشائك Porcupine Skin والأذن المشعرة Hairy Ears ووجود الصفاق بين أصابع الأرجل Weebed Toes.

تـدعى جميـع هـذه الصـفات والتـي تـرتبط مـع كروموسـوم Y بالصـفات الهولندرية Holandric Traits.

رجل مشعر الأذنين $X^{o}Y^{m} \times X^{o}X^{o}$ امرأة طبيعية

↓

ذكور مشعرة الأذان $2X^{o}Y^{m} \; : \; 2X^{o}X^{o}$ إناث طبيعية


2
الفصل الثاني
الأمراض الناشئة عن موروث جسمي سائد
Autosomal Dominat Disorders

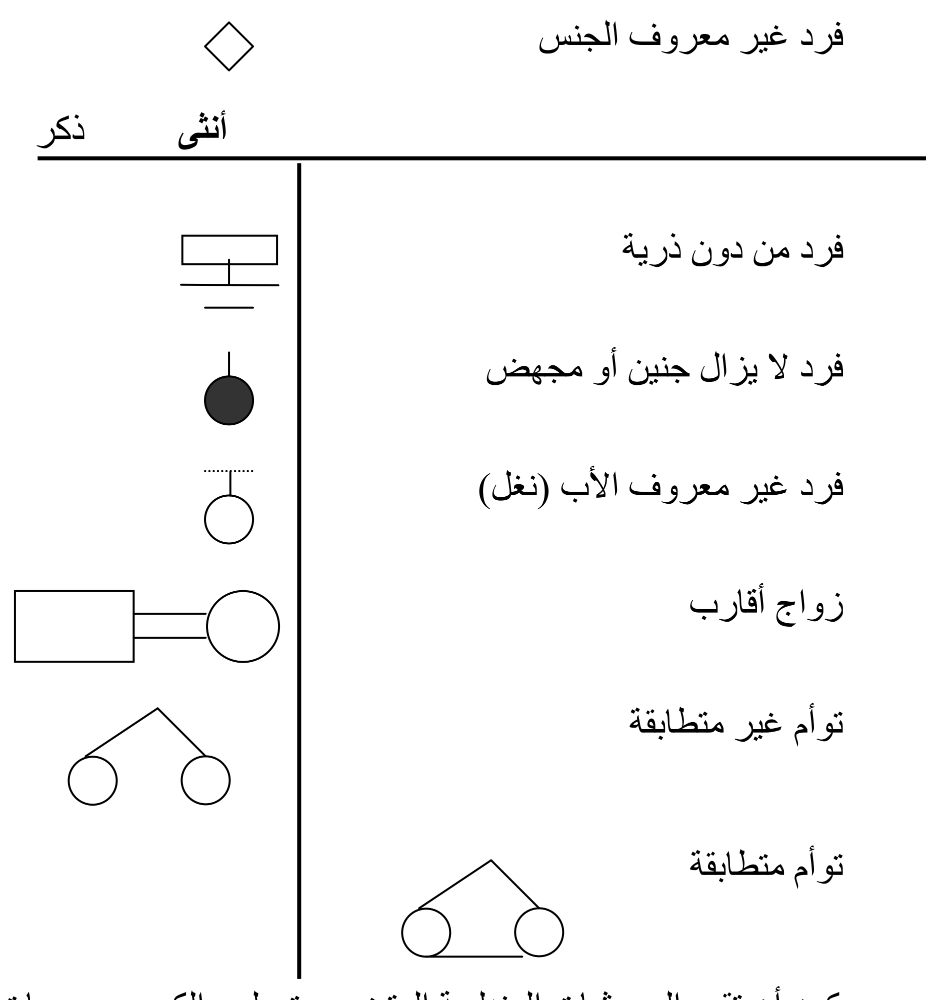
الفصل الثاني

الأمراض الناشئة عن موروث جسمي سائد

مقدمة حول الأنماط الوراثية للأمراض المندلية:

تنشأ الأمراض الوراثية المندلية نتيجة حصول عطباً أو ضرراً في مورث مفرد يتبع في توارثه القوانين المندلية. وعلى الرغم من ندرة حصول مثل هذه الأضرار إلا أنها مع معرفة أكثر من 4000 مورث مندلي تصبح ذات أهمية كبيرة وتزداد معها احتمالية إصابة الأفراد. إن مثل هذه الاحتمالية يمكن حسابها وتوقعها عند أفراد ينتمون لعوائل ذات تاريخ وراثي لمرض ما وذلك من خلال معرفة نمط توارث المرض عن طريق بيانات السجل العائلي. وعلى العموم فإن هناك لائحة خاصة بالعلامات والرموز المستخدمة في بناء السجلات العائلية أو الأشجار العائلية اللازمة في التحليل الوراثي يوضحها الجدول التالي:

	أنثى	ذكر
أنثى وذكر طبيعيان	○	□
أنثى وذكر مصابان	●	■
(المورث هجين جسمي متنحي) أنثى وذكر حاملان لصفة المرض	◐	◧
أنثى وذكر متوفيان	⊘	⧄
(ارتباط بكروموسوم X) أنثى حاملة لصفة المرض	⊙	



يمكـن أن تقـع المورثــات المندليــة المتضـررة علــى الكروموســومات الجسمية Auto-Somal Chromosome لذلك فإن أنماط الاختلالات الوراثية المندلية (الأمراض المندلية) ويمكن وتبعاً للسيادة والتنحي أن تظهر على هيئات خمسة وهي :

1. الأمراض الناشئة عن مورث جسمي طافر سائد.
   Autosomal Dominant Disorders
2. الأمراض الناشئة عن مورث جسمي طافر متنحي.
   Autosomal Recessive Disorders
3. الصفات المرتبطة مع كروموسوم Y.
   Y-Linked Traits
4. الأمراض الناشئة عن مورث طافر مرتبط بكروموسوم X سائد.

X-Linked Dominant Disorders

5. الأمراض الناشئة عن مورث طافر مرتبط بكروموسوم X متنحي.

X-Linked Recessive Disorders

الأمراض الناشئة عن مورث جسمي طافر سائد

Autosomal Dominant Disorders

تمثل الأمراض التي تتبع هذا النمط من التوارث معظم الأمراض المندلية وتشكل هذه حوالي 50% من الأمراض المندلية (جدول 2-2). تنشأ هذه الأمراض عن وجود طفرة وراثية في مورث مفرد (اليل واحد) بينما يكون المورث النظير طبيعي ويسود في هذا النمط المورث الطافر (غير الطبيعي) بينما يبقى تأثير المورث الطبيعي مكبوتاً. تدعى الهيئة الوراثية للأفراد المصابين بهذه المجموعة من الأمراض بالهيئة الوراثية غير المتماثلة أو الهجينة Heterozygous (شكل 2-1). تتميز هذه الأمراض بأن تورثها عمودي أو رأسي Vertical حيث تمرر مورثات الأمراض دون تمييز بالجنس إلى نصف ذرية الآباء (أب واحد مصاب وآخر طبيعي) وتكون نسبة إصابة الذكور مساوية لنسبة إصابة الإناث (شكل 2-2).

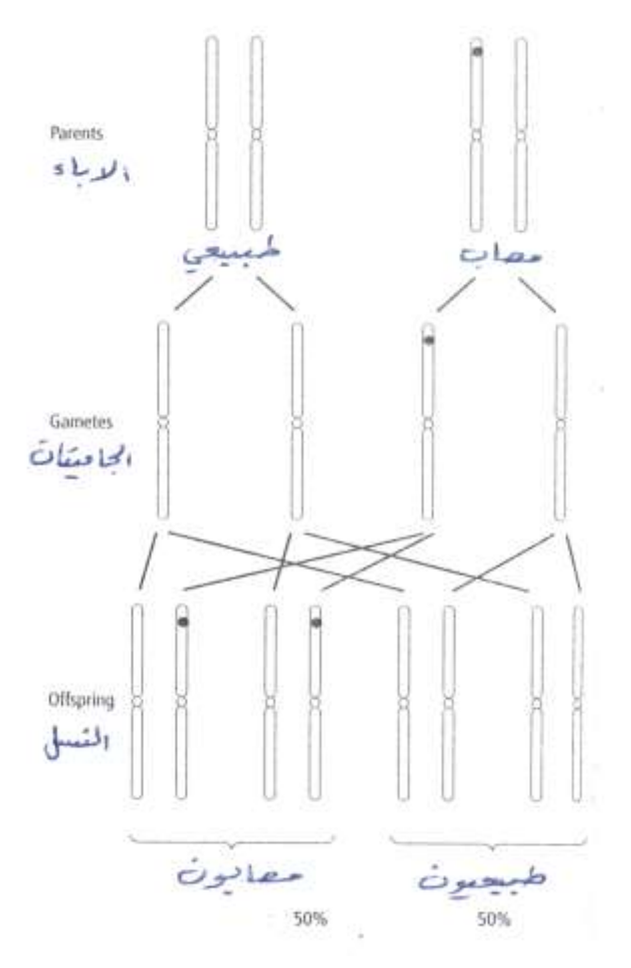
كما يمكن ظهور أفراد مصابون بالمرض في كل جيل. واستناداً لما سبق فإن نسبة انتقال المرض إلى الأبناء من أب مصاب تساوي 50% إذ يكون نصف النسل طبيعي والنصف الآخر (ذكوراً وإناثاً) مصابة بالمرض.

ولغرض توضيح صورة توارث هذه المجموعة من الأمراض فإننا سنتحدث بشيء من التفصيل عن مرض زيادة الكوليسترول العائلي Familial Hyper-Cholestrolamia.

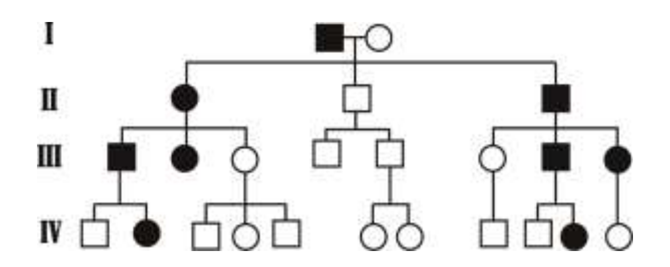
جدول 2-2 : بعض الأمراض ذات التوارث الجسمي السائد

الصفات والأمراض والتناذرات

Achondroplasia	Colonic Polycystic
Acute Intermittent Prophyria	Huntington's Disease
Adult Polycystic Kindney	Isoniazid Response
Alzheimer بعض الحالات	Myotonic Dystrophy
Apert Syndrome	Multiple Exostoses
Barbiturates Seneitivity	Marfan Syndrome
Congenital Spherocytosis	Noonan's Syndrome
Couemarin Sensitivity	Neurofibromatosis
Dominant Blindness	Osteogenesis Imperfecta بعض الحالات
Dominant Congeintal Deafness	Otosclerosis
Epidermolysis Bullosa بعض الحالات	Polyposis Coil
Erythermalgia	Progressive Myositis Ossificans
Facioscapulohumeral Dystrophy	Tuberous Sclerosis
Familial Hypercholesterolaemia	Von Willebrand
Familial Adonomatous Polysis	



شـكل 2-1 : مخطـط لطريقـة تـوارث الأمـراض المرتبطـة بمـورث جسمي سائد.



شكل 2-2: شجرة عائلية توضح كيفية توارث مرض مرتبط مع مـــورث
طافر جسمي سائد

مرض زيادة الكوليسترول العائلي:

يعتبر مرض زيادة الكوليسترول العائلي من أكثر الأمراض الوراثية التي تتبع نمط التواث الجسمي السائد شيوعاً. ينشأ هذا المرض نتيجة لزيادة كوليسترول الدم وخصوصاً البروتينات الدهنية قليلة الكثافة Low Density Lipoproteins
(LDL). تظهر أعراض المرض على هيئة عقد وترية صفراء متورمة Tendom Xanthomata يمكن مشاهداتها في مواقع تمفصل الأصابع مع مشط اليد عند قبض الأصابع على بعضها وحول الكوع والركبة والأرداف وتحت جفون العينان وحجرة العينان الداخلية والحافة السفلية للقزحية (على هيئة أبيض) ويترافق ذلك بارتفاع حاد في مستوى الكوليسترول في الدم Hypercholesterolemia ونوبات قلبية قاتلة (شكل 2-3).

تختلف شدة أعراض هذا المرض اعتماداً على تماثل أم عدم تماثل الطفرات الوراثية في المورث المسؤول عن مستقبل جزيئات LDL. إذ تكون الأعراض شديدة ومبكرة في الأفراد المتماثلين للطفرة الوراثية ويعاني هؤلاء من تصلب الشرايين Atherosclerosis الذي يؤدي إلى نوبات قلبية تؤدي إلى الموت في سن خمسة سنوات إلى ثلاثين سنة بينما يزداد العمر في المرضى غير المتماثلين للطفرة حتى الخمسين سنة. يتم التخلص من الكوليسترول وهو على هيئة LDL في الحالات الاعتيادية نتيجة وجود مستقبلات خاصة على السطح الخارجي لأغشية الخلايا تسمح بارتباط جزيئات LDL معها ويعتبر هذا الارتباط إشارة للخلية لابتلاع معقدات المستقبل LDL وادخالها للسايتوبلازم.

ترتبط الفجوات Vacuoles التي تحتوي على معقدات المستقبل LDL مع عدداً من الأجسام الحالة Lysosomes التي تقوم أولاً بفصل المستقبلات عن جزيئات LDL ليتم إعادة تدويرها واستخدام هذه المستقبلات مرة ثانية. أما جزيئات LDL فيتم تحويلها إلى أحماض أمينية وكوليسترول وتستخدم في العمليات الأيضية الداخلية مثل بناء الأغشية وإنتاج الهرمونات الستروئيدية ومواد مختلفة.

يتم التحكم في مستوى الكوليسترول عبر التحكم في عملية إنتاج مستقبلاتLDL وذلك من خلال التحكم بنشاط الأنزيم 3-Hydroxy-3-Methylglutary 1-COA Reductase (HMG-COA Reductase) المسؤول عن ذلك.

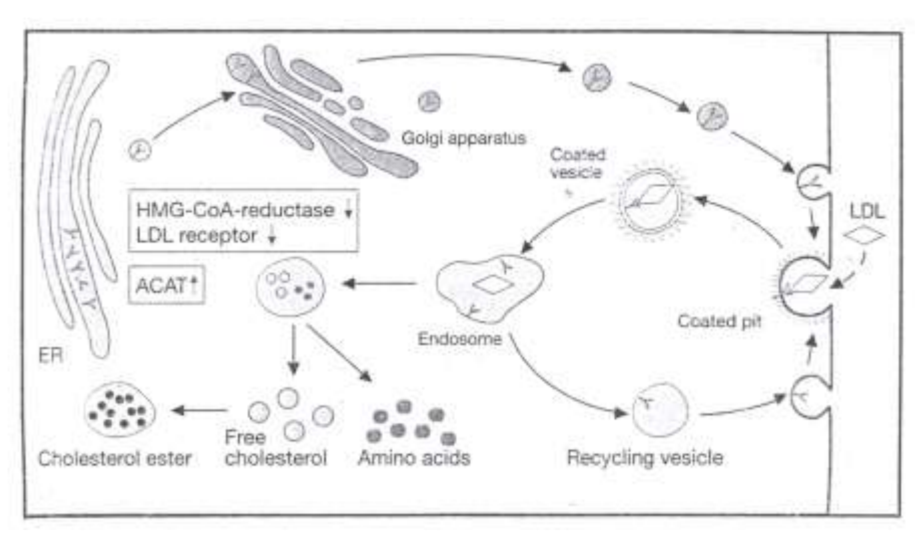
ويعمل الكوليسترول الزائد داخل الخلايا على تحفيز الأنزيم ACAT) Acylcoa Cholesterol Transferase) لغرض تخزينه ككوليسترول مؤسنز Cholesterol Ester (شكل 2-4).

ينشأ مرض زيادة الكوليسترول العائلي نتيجة لفقدان المستقبلات LDL من على سطح أغشية الخلايا أو عطبها بحيث لا تتمكن جزيئات LDL من الارتباط مع الخلايا مما يؤدي إلى ارتفاع مستواها في الدم وثم ترسيلها داخل الأوعية الدموية واللمفاوية وهوما يؤدي إلى تصلبها ويصبح الأمر خطيراً في حالة حصول ذلك في الأوعية الدموية التاجية التي تغذي القلب وهو ما يؤدي إلى الأزمات القلبية وقصور عمل القلب Coronary Heart Disease.

يتكون مستقبل الكوليسترول LDL من 839 حامضاً أمينياً تمثل خمسة مواقع للارتباط. ثلاثة من هذه المواقع خارجية ورابع داخل الغشاء البلازمي والخامس مرتبط مع النهاية الكاربوكسيلية في السايتوبلازم.



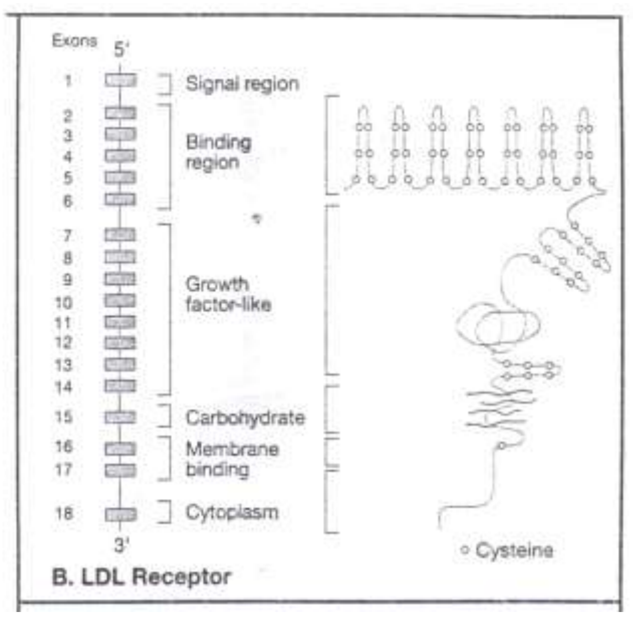
شكل 2-3: العقد الوتريـة الدهنيـة Xanthomata فـي مفاصـل الأصـابع الناشئة عن الإصابة بزيادة الكوليسترول العائلي.



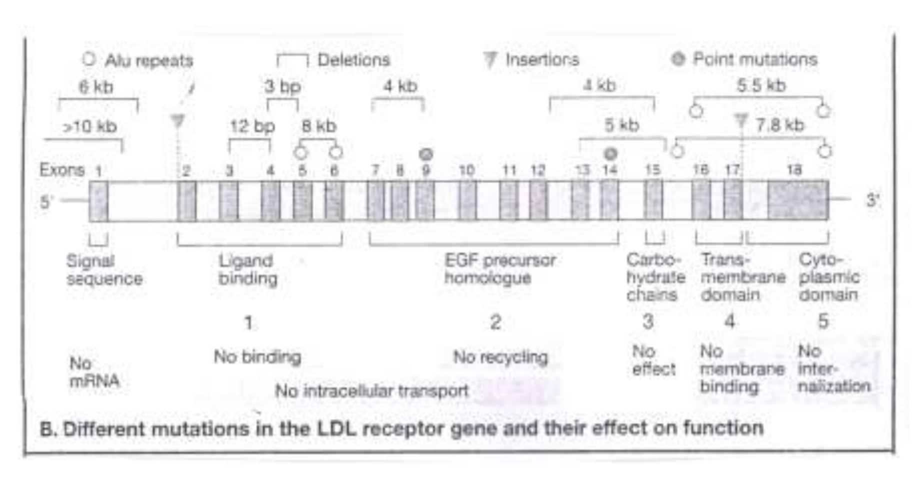
شكل 2-4: آلية استقبال جزيئات البروتينات الدهنية قليلة الكثافة LDL على الغشاء الخلوي وتمثيلها.

يتألف الجزء الخاص بالارتباط مع جزيئات LDL من سبعة وحدات كل منها مؤلف من 40 حامضاً أمينياً بعضها غني بالحامض الأميني سستين Cystin. توجد داخل المستقبل عدة مواقع تتماثل في ترددات أحماضها الأمينية مع مواقع في مستقبلات عامل النمو الجلدي EGF وبروتينات تخثر الدم وهذا يعني اشتقاق هذا المستقبل من هذه العوامل (شكل 2-5).

ترجع حالة فقدان مستقبلات LDL من على أغشية الخلايا أو عطبها نتيجة لطفرة وراثية في المورث المسؤول عن إنتاج هذه المستقبلات والذي يقع على الذراع القصير لكروموسوم 19 (13.3 – 19 P13.1). يتألف هذا المورث من 18 محوراً تشغل حوالي 45 كيلو قاعدة (kb) (شكل 2-6) سجلت حتى الآن خمسة أنواع من الأضرار الناشئة عن طفرات وراثية في هذا المورث تؤثر جميعاً على عملية التخلص وتمثيل الكوليسترول وهي :



شكل 2-5: مخطط لمستقبل LDL والمورث المشفر له موضحاً المواقع الخمسة للمستقبل ومناطق تشفيرها على محاور المورث.



شـكل 2-6: أنـواع ومواقـع الأضـرار الوراثيـة التـي يتعـرض لهـا المورث المشفر للمستقبل LDL.

: طفرة ور... : إخال

: حذف تكرار Alu

1- بعض الطفرات تؤدي إلى عدم إنتاج البروتين اللازم لبناء مستقبلات LDL ويطلق على هذه الطفرة Ro تؤدي إلى عدم تكوين مستقبلات LDL نهائياً.

2- بعض الطفرات تؤدي إلى أضرار في عمليات النقل الخلوي داخل الخلايا مثل إيقاف تدوير المستقبلات وتحليل جزيئات LDL وغيرها.

3- تؤدي بعض الطفرات إلى إتلاف مواقع تأصر جزيئات LDL مع المستقبلات مما يرفع مستوى جزيئات LDL خارج الخلايا.

4- تؤدي بعض الطفرات إلى عدم حصول ابتلاع خلوي Endocytasis لمعقدة المستقبل LDL نتيجة لفقدان المستقبلات لنشاط المرسل الثانوي أو الثاني الذي يعمل على تحفيز أغشية الخلايا على ابتلاع المعقدات وتكوين فجوات.

5- بعض الطفرات الوراثية تؤدي إلى فصل المستقبلات عن جزيئات LDL داخل الفجوات مما يوقف عمل الأنزيمات المحللة.

ويذكر بأن عدد أنواع الأضرار الوراثية التي سجلت في هذا المورث 127 ضرراً تراوحت بين طفرات وراثية مفردة وإدخال Insertion وتضاعف موقعي Duplication ويعتبر المحور التاسع من هذا المورث من أكثر المحاور تعرضاً للطفرات الوراثية المسببة لمرض ارتفاع الكوليسترول العائلي.

تحليل وتحديد احتمالية الإصابة:

إن أفضل الوسائل لتحليل مرض وراثي ولتحديد احتمالية الإصابة عند الأبناء هو باستخدام المعلومات العائلية لبناء شجرة تمثل السجل العائلي للمرض والقيام بفحوصات بايولوجية دقيقة واستخدام المعادلات الرياضية. (شكل 2-7 وشكل 2-8 وشكل 2-9) تمثل أشجار لعائلتين تتوارثان مرض ارتفاع الكوليسترول العائلي وأخرى تتوارث مرض Erythermalgia ويمثل السهم (←) في كل منها الحالة المرضية تحت الدراسة. يلاحظ من جميع الأشجار العائلية الانتقال العمودي للأمراض حيث يظهر بأن هناك دائماً 50% مصابين و50% طبيعيين لأب واحد مصاب بالمرض. يمرر الأب المصاب بالمرض الكروموسوم الذي يحتوي على المورث الطافر إلى أحد أبناءه (المريض) بغض النظر عن الجنس بينما يذهب الكروموسوم الطبيعي إلى الإبن الآخر الطبيعي. ولا يوجد في مثل هذه الأمراض حاملين لصفة المرض.

أب طبيعي Ff × Ff أب مصاب

↓

أبناء طبيعيون 2FF : 2Ff أبناء مصابون ff

%50 %50

إن بناء الأشجار العائلية تساعد كثيراً في تحديد نمط توارث مرض ما إلا أنها لا تحدد احتمالية الإصابة عند الأبناء المحتملين لمصاب ويمكن تحديد الاحتمالية اعتماداً على عدد الأبناء التي ينوي المريض إنجابها ومعادلة مفكوك الحدين.

فلو افترضنا بأن الذكر المصاب في الجيل الأخير من الشجرة الأولى يود إنجاب ثلاث أبناء فإن احتمالية إصابة هؤلاء الأبناء بالمرض ستكون $(p+q)^3$ حيث يمثل p فرصة الحصول على طفل طبيعي (1/2) و q فرصة الحصول على طفل مصاب (1/2) لذلك فإن الاحتمالات تكون كالتالي:

$$q^3 + 3Pq^2 + 3P^2q + P^3 = (P+q)^3$$

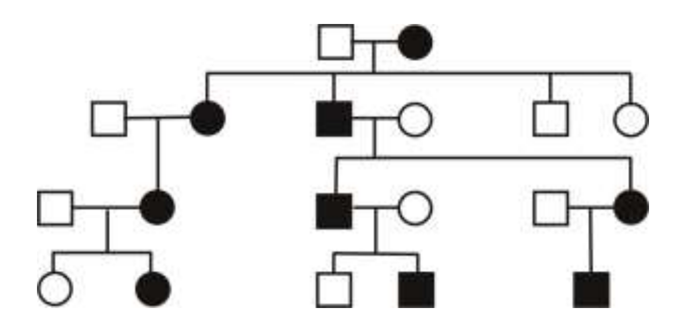
$P^3 = (1/2)^3 = 1/8 = 12.5\%$ احتماليــة الحصــول علــى ثلاثــة أطفــال طبيعيين.

$3P^2q = 1/2 \times (1/2)^2 \times 3 = 3/8 = 37.5\%$ احتماليــة الحصــول علــى طفلين طبيعيين وثالث مصاب.

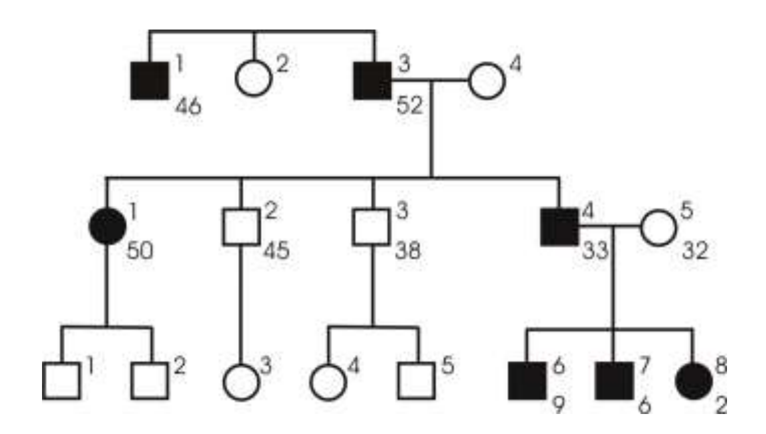
$3Pq^2 = (1/2)^2 \times 1/2 \times 3 = 3/8 = 37.5\%$ احتمالية الحصول على طفل واحد طبيعي وطفلين مصابين.

$q^3 = (1/2)^3 = 1/8 = 12.5\%$ احتماليــة الحصــول علــى ثلاثــة أطفــال مصابين.

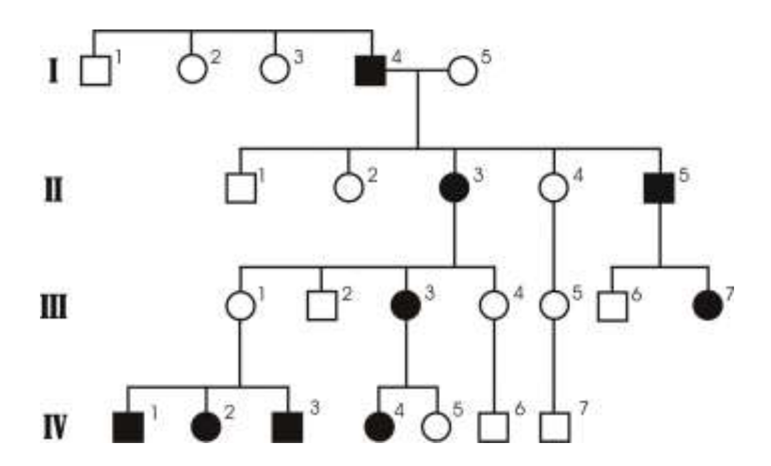
وتوضح الأشجار العائلية الثانية (2-8) والثالثة (2-9) حصول الرجل والمرأة تحت الدراسة على ثلاثة أطفال مصابين على غير النسبة المعروفة (50%) ويعزى ذلك إلى وجود هذه الاحتمالية بنسبة 12.5% كما هو في التحليل السابق.



شـكل 2-7: شـجرة العائلـة لمصــاب بمـرض زيـادة الكوليسـترول العائلي. لاحظ الانتقال العمودي للمرض



شـكل 2-8: شـجرة العائلـة لمـريض آخـر مصــاب بمـرض زيــادة الكوليسترول العائلي. لاحظ وجود ثلاثـة أبنـاء مصـابين فـي الجيل الأخير (احتمالية حصول ذلك تبلغ 12.5%)



ج

شكل 2-9: شجرة العائلة لمريض مصاب بمرض الأرثيروملاجيا (الحمره): لاحظ التشابه في توارث المرض مع الأمراض السابقة.

صعوبات الاستثارة الوراثية لهذه المجموعة من الأمراض:

إن تشخيص النمط الوراثي لهذه المجموعة من الأمراض سهل نسبياً إلا أن تقديم الاستثارة الطبية للآباء لا يخلو من المشاكل لأسباب عديدة منها أن شدة الإصابة في بعض هذه الأمراض تختلف من فرد إلى آخر حيث تتراوح الشدة من أعراض بسيطة إلى أعراض شديدة الخطورة ويعزى ذلك الاختلاف في التعبير عن المرض Variable Expressivity ولا يعرف سبب ذلك. يؤدي ذلك إلى صعوبة في توقع شدة المرض لدى أفراد الأجيال القادمة.

فمثلاً مرض Tuberous Sclerosis فإن بعض الأفراد المصابين يعانون من أعراض جلدية بسيطة إلا أنهم يمكن أن يرزقوا بأبناء متخلفين عقلياً يمثلون الحالة الشديدة لأعراض هذا المرض.

ولا يقتصر الأمر على ذلك بل إن بعض الأمراض تتأخر في الظهور بحيث يبقى المصابون دون أعراض لسنوات طويلة يتزوجون خلالها ويرزقون بأبناء مصابون بالمرض دون علمهم. تدعى هذه الحالة بعدم نفاذية المرض Non-Penetrance. ويعتبر سرطان القولون ومرض تعدد الأكياس الكلوية من الأمراض المتأخرة النفاذية حيث تظهر أعراض المرض بعد سن الأربعين. وكذلك مرض هنتجتون Huntington Dioease الذي تبدو أعراضه في الأعمار المتأخرة (شكل 2-10).

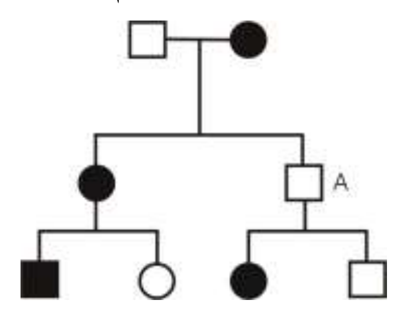
يعتبر الاختلاف في التعبير وعدم النفاذية ذات أهمية كبيرة في الاستثارة الوراثية المقدمة للعوائل التي لها تاريخ في مثل هذه الأمراض. إذ لا يمكن إعطاء ضمانة كاملة للأفراد ذوي المظهر الطبيعي بأنه سوف لن يكون لديهم أطفال مصابون على الرغم من خطورة الإصابة تكون منخفضة ولا تزيد عن 10%.

ويمكن قياس نفاذية مرض ما من خلال معلومات سجل العائلة الوراثي حيث أن النفاذية في حالة إصابة تسعة أفراد من عائلة مؤلفة من عشرة أفراد تساوي 90%.

إضافة لما سبق فإن شدة المرض لدى بعض المصابين تبدو منخفضة نتيجة لاتباع الحمية كما هو الحال في زيادة الكوليسترول العائلي أو نتيجة أخذ عقاقير طبية كما هو الحال في مرض Prophyria وهذا يتطلب من المستشار الطبي التدقيق الجيد قبل تحديد الاحتمالات. علاوة على ما سبق فإن هناك أمراضاً تتبع نفس النمط السابق ناتجة عن طفرة وراثية عند فرد واحد من عائلة لا تمتلك سجلاً وراثياً لمثل هذا المرض. وفي مثل هذه الحالة فإن خطورة الإصابة لفرد

آخر لنفس الآباء تكاد تكون معدومة ويمكن إهمالها. كما أن بعض الأمراض مثل Myotonic Dystrophy ناتجة عن طفرة وراثية غير مستقرة وتعتمد شدة هذا المرض على نوع الطفرة وأن بعض الأمراض مثل تناذر ابيرت Apert Syndrome و Progressive Myositis Os- sificans وتناذر مارفن Marphan Syndrome والتقزم Achondroplasia يُظهر أفرادها مع مرور الزمن أنواعاً أخرى من الطفرات الوراثية التي تؤدي إلى ظهور أمراض جديدة مثل Retinblastoma و Neurofibromatosis.

تتطلب مثل هذه الحالات وغيرها إجراء اختبارات جزيئية للتأكد من الطفرات الوراثية قبل تقديم الاستثارة الوراثية.



شكل 2-10: شجرة العائلة لمصاب بمرض يتبع في توارثه نمط التوارث الجسمي السائد. لاحظ أن الفرد A يمثل عدم نفاذية المرض حيث يكون طبيعياً من الناحية المظهرية وغير متماثل للطفرة Heterozygous وراثياً.


الفصل الثالث
الأمراض الناشئة عن موروث جسمي متنحي
Autosomal Recessive Disorders

الفصل الثالث

الأمراض الناشئة عن مورث جسمي متنحي

Autosomal Recessive Disorders

مقدمة:

تنشـأ الأمـراض التـي تتبـع هـذا النـوع مـن التـورارث نتيجـة اجتمـاع اليلـين طـافرين لمـورث معـين فـي الفـرد المـريض (الهيئـة الوراثيـة للطفـرة متماثلـة Homozygous) وتنتقل هذه الأمراض من جيل إلى آخر أفقياً Horizontal.

يلاحظ من خلال الهيئـة الوراثيـة للمرضـى بـأن اليل طـافر واحد غير كـاف لظهور المرض ويوصف الأفراد الذين لديهم هيئـة وراثيـة غيـر متماثلـة عندئذ بالحـاملين للمرض أو لأسباب المرض Carriers. يبدو الحـاملين لصـفة المرض طبيعيون وأصحاء ولكن عند زواجهم من بعضـهم البعض ستكون فرصـة ظهور المرض لدى ذريتهم تساوي 25% وهـي مساوية لفرصـة حصـولهم علـى أبنـاء أصحاء طبيعيين. وباستعمال معادلـة مفكوك الحدين فإن فرصـة الحصـول علـى طفلين طبيعيين لهما تساوي 56.25% بينما فرصة ونسبة حصولهما علـى طفلين مصابين تساوي 6.25% ونسبة حصولهما على طفل طبيعي وآخر مصاب تساوي 37.5% (شكل 3-1).

ويذكر بأن الإصابة بالمرض أو حمل صفة المرض لا تتقيد بجنس معين بل يمكن حصولها عند الإنـاث والذكور. أم في حالـة زواج فرد مصـاب بـالمرض بآخر طبعيي تماماً فإن فرصة إنجابهما لأبناء مصابين بـالمرض ستكون صفراً وتكون ذريتهما جميعاً حاملة لصفة المرض.

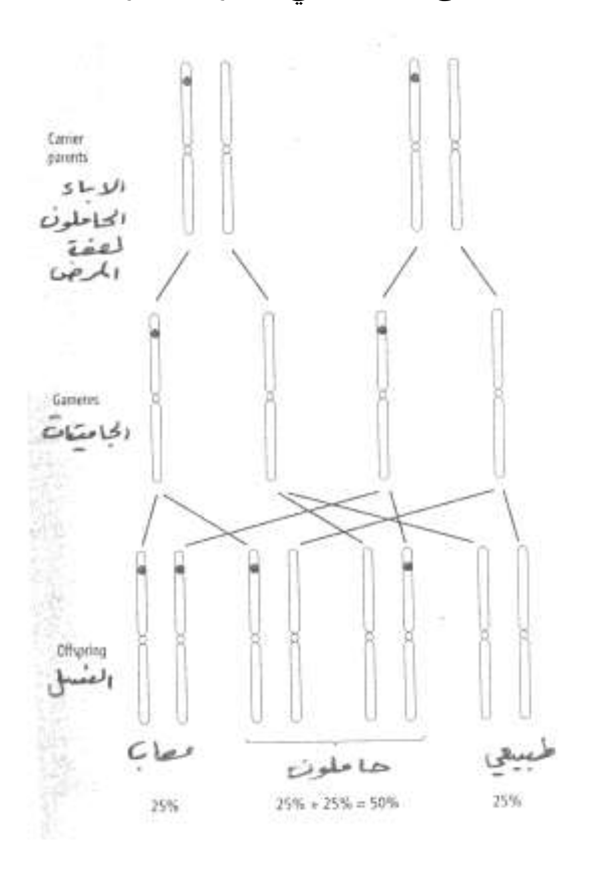
ويلاحـظ أن هنـاك خطـورة كبيـرة مـن الإصـابة بـأمراض هـذا النـوع مـن التـوارث وذلـك عنـد قيـام زيجـات مـن نفس العائلـة أو العشـيرةوذلك أنـه مـن المعروف بأن تلك الأمراض تزداد انتشاراً فـي الجماعـات التـي يتحدد الزواج فيها بين الأقارب فقط (شكل 3-2).

تأتي خطورة زواج الأقارب Consanguineous من أن الآباء يشتركون في أجداد معينين وذلك يعنـي حصـولهما علـى مورثـات طـافرة من هؤلاء الأجداد. كما يلعب العامل العرقي (الاثني Ethanic) دوراً في بعض أمراض هذا النمط مـن التـوارث حيـث يـزداد تكـرار الحـاملين لصـفة المـرض بسـبب التزاوجـات الداخليـة. ويمكـن ملاحظـة التـأثير لصـفة المـرض بسـبب التزاوجـات الداخليـة. ويمكن ملاحظة التأثير العرقي واضحاً في المجموعات العرقية المعزولة بسبب مـا كمـا هـو الحـال فـي اليهـود الأشـكناز والسـود الأمـريكين حيـث ينتشـر بـين المجموعة العرقية الأولى ثلاثة أنواع من الأمراض النادرة وهي مرض تـاي – سـاجكس Tay-Sachs ومـرض جـوجر Gaucher وتنـاذر بلـوم Bloom Syndrome وبين المجموعـة الثانيـة مـرض فقـر الـدم المنجلـي Sickle Cell

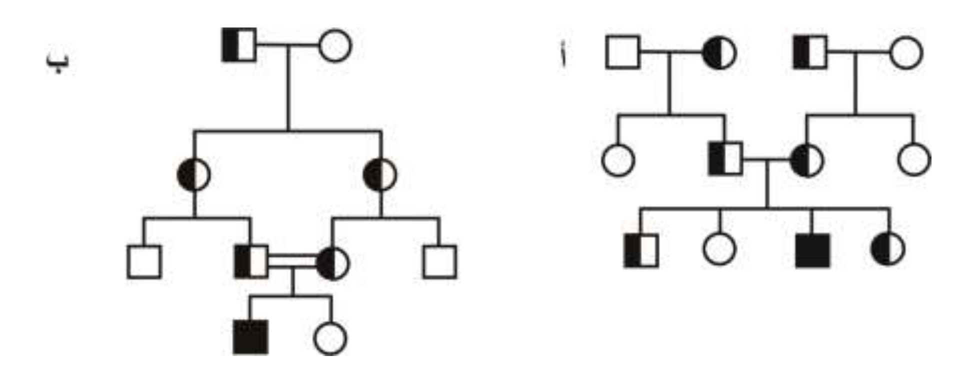
Anemia حيث يتراوح تكرار هذا المرض عند الأفارقة السود 1 من كل 4 حامل للصفة ومصاب واحد من كل 40 فرد.

لقد شخص في الإنسان 1730 صفة جسمية متنحية يرتبط بعضها بأمراض مهمة ويوضح الجدول (3-1) أهم هذه الأمراض, تمثل الأمراض التي ترتبط بأنزيمات متضررة غير فعالة أو مشوهة حوالي 15% من هذه الأمراض.

يمكن إيجاد أكثر من نوع من الطفرات الوراثية في مورث مسبب لعدة أمراض من هذه المجموعة وعندئذ فإنه من المحتمل وجود نوعان من الطفرات الوراثية لنفس المورث في مريض واحد. وفي هذه الحالة وهي نادرة فإن شدة المرض تعتمد على تماثل نوعي الطفرات الوراثية.



شكل 3-1: مخطط عام لطريقة توارث الأمراض المرتبطة بمورث جسمي متنحي.



شكل 3-2: أشجار عائلية توضح كيفية توراث مرض مرتبط بمورث طافر جسمي متنحي. لاحظ زيادة الفرصة في إنجاب أفراد مصابين في حالة زواج الأقارب (ب).

جدول 3-1: بعض الأمراض ذات التوارث الجسمي المتنحي

Adrenogenital Syudrome	Hurler's Syndrome (I) (Mucopolysaccharidoses)
Ataxia telangiectasia	Increases Sensitivity to isoniazid
Bloom Syndnome	Laurence-Moon-Biedl Syndrome
Congenital adreanal hyperplasin	Occulocutaneous albinism
Cystic fibrosis	Phenylkotonuria
Congenital deafness	Recessive mental retardation
Diastrophic dwarfism	Recessive blindness
Albinism	Sickle cell anemia
Epidermolysis bullosa بعض الأشكال	Spinal muscular atrophy
Cerebro-hepato-renal Syndrome (Type Zellweger)	Severs Combined immunodeficiency
Friedreich`ataxia	Tay-Sachs disease
Galactosaemia	Thalassaemia
Gaucher disease	Von-Willebrard disease
Haemochromatosis	Fanconi anemia
Homocystinuria	

فقر الدم المنجلي **Sickle Call Anemia** :

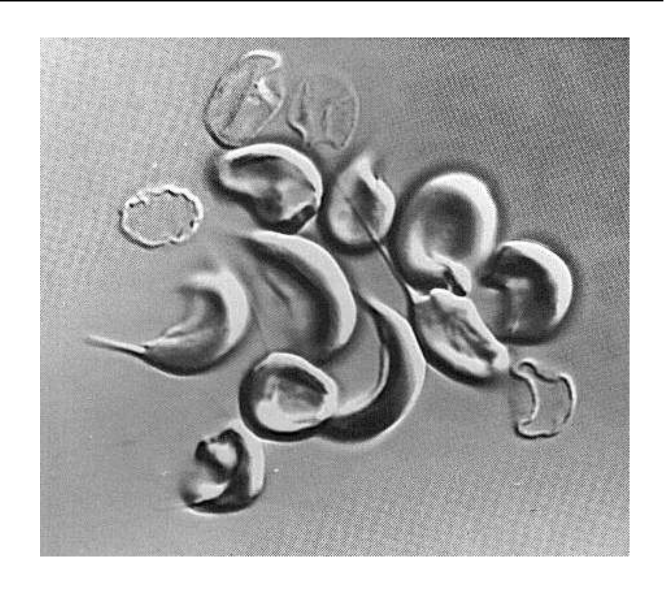
ولزيـادة توضـيح آليـة تـوارث هـذا الـنمط مـن الأمـراض فإننـا سـنتحدث عـن بعض الأمراض التي تسلك في توارثها النمط الجسمي المتنحي.

يعتبـر مـرض فقـر الـدم المنجلـي أكثـر الأمـراض التـي تتبـع هـذه المجموعـة دراسة. يصيب هذا المرض كريات الـدم الحمـراء RBCs ويـؤدي إلـى تشـوه فـي شكلها حيث تنتهي هذه الخلايا على هيئة المنجل.

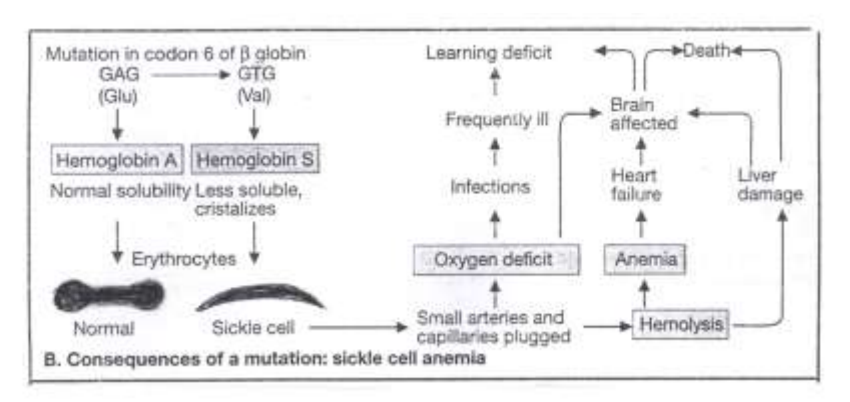
في مسحات الدم الطبيعية تبدو كريات الـدم الحمـراء قرصـية الشـكل منتظمـة ومقعرة الوجهين ويبلغ قطرها حوالي 7 مايكرون. أما عنـد المصـابين بـالمرض فتبدو كريات الدم هذه علـى هيئـات مختلفـة وبأحجـام غيـر طبيعيـة. ففـي حـالات الإصـابة الخفيفة والمتوسطة فإنه مـن الممكـن رؤيـة خلايـا الـدم الحمـراء أصـغر حجماً وبعض منها على هيئات مشوهة فيمـا تصـبح الخلايـا المشـوهة والمنجليـة هي الغالبة في الحالات الشديدة من فقر الدم (شكل 3-3).

تصبح الخلايا المنجلية والمشوهة شديدة القابلية علـى التهشـم ممـا يـؤدي إلـى موتها خلال فترة قصيرة من حياتها وتتسبب في فقر الدم الشديد.

ولا يقف ضرر الخلايا المشوهة عند هذا الحد بل إنها تعمل على غلق بعض الأوعية الدموية مما يؤدي إلى انخفاض في جريان الدم وبـالتالي انخفـاض نسـبة الأوكسجين التي تصل إلى الأنسجة المسـتفيدة مـن هـذه الأوعيـة ممـا يـؤدي إلـى حصـول إصابات مختلفـة تتـراوح مـا بـين التهابـات وتـورم وفشـل أعضـاء مهمـة كالقلـب والكبـد إلـى أضـرار دماغيـة قاتلـة. هـذا إضـافة إلـى انخفـاض قابليـة هـذه الخلايا على حمل الأوكسجين وثاني أوكسيد الكاربون (شكل 3-4).



شـكل 3-3: الخلايـا المنجليـة الشـكل فـي حالـة الإصـابة بفقـر الـدم المنجلي Sickle Cell Anemia.



شكل 3-4: نشوء الأشكال المنجليـة لكريـات الـدم الحمـرا ءوالتـأثيرات الضارة المحتملة لوجود مثل هذه الأشكال غير الطبيعية.

ينشأ تشوه كريات الدم الحمراء نتيجة لعدم وجود سلاسل عديد الببتيد المؤلفة للهموغلوبين بانتظام طبيعي بسبب طفرات وراثية فـي المورثـات المشـفرة لهذه السلاسل مما يؤدي إلى استبدال أحماض أمينية بأحماض أخرى نتيجة لتغير في الشفرات الوراثية.

ومن الجدير بالذكر بأن الهيموغلوبين الطبيعي في الإنسان (من غير الأجنة) يتـألف مـن سلسـلتين عديـد الببتيـدات ألفـا (α) مرتبطـة مـع سلسـلتين مـن عديـد الببتيدات بيتا (β). تنتظم هذه السلاسل بطريقة معينة ومع أربعة ذرات حديد (Fe) بحيث تعطي في النهاية الشكل الطبيعي لكريات الدم الحمراء. كما أن هذا الانتظـام يـوفر سـعة اسـتيعابية عاليـة للهيموغلـوبين للإرتبـاط مـع الأوكسـجين وثاني أكسيد الكربون.

كما أن هناك أنواعاً أخرى نادرة من الهيموغلوبين مؤلفة من سلاسل عديدة الببتيد محوره أشهرها النوع الذي يطلق عليه الهيموغلوبين Hb A2 والذي يتـألف مـن سلسـلتين عديـد الببتيـد ألفـا وسلسـلتين عديـد الببتيـد سـكما. أمـا هيموغلـوبين الأجنـة البشـرية فيطلـق عليـه الهيموغلـوبين HbF ويتـألف مـن سلسلتين عديد الببتيد ألفا وسلسلتين جاما ويختفي هذا النوع من الهيموغلوبين بعد الولادة بقليل ليحل محله النوع الطبيعي HbA.

تترتب سلاسل الهيموغلوبين بحيث أن الأحماض الأمينية اللاقطبية وغير المشحونة تقع إلى الداخل فيما تقع الأحماض الأمينية القطبية والمشحونة إلى الخارج ولذلك أهمية كبيرة في أداء الهيموغلوبين لوظيفته على أفضل وجه.

أما الهيموغلوبين غير الطبيعي المسبب لمرض فقر الدم المنجلي فيطلق عليه الهيموغلوبين HbS. يتألف هذا الهيموغلوبين من سلسلتين عديد الببتيد ألفا (تتألف السلسلة الواحدة من 146 حامضاً أمينياً).

تنشأ السلاسل غير الطبيعية من هذا الهيموغلوبين نتجية وجود طفرة وراثية في موقع الشفرة الوراثية رقم 6 من المورث المشفر لهذه السلاسل والذي يقع على الذراع الصغير لكروموسوم 11 (11 P 15.5). تنتج هذه الطفرة من استبدال القاعدة النتروجينية T (ثايمن) بالقاعدة A (الأدنين) في الشفرة الوراثية على المورث (CAC ← CTC)وتنتقل الشفرة الطافرة إلى جزيئة الحامض النووي المرسال mRNA عند استنساخ هذا المورث على هيئة سفرة خاصة بحامض الفالين GUG بدلاً من شفرة حامض الجلوتاميك الطبيعية GAG (الأشكال 3-5 , 3-6 , 3-7).

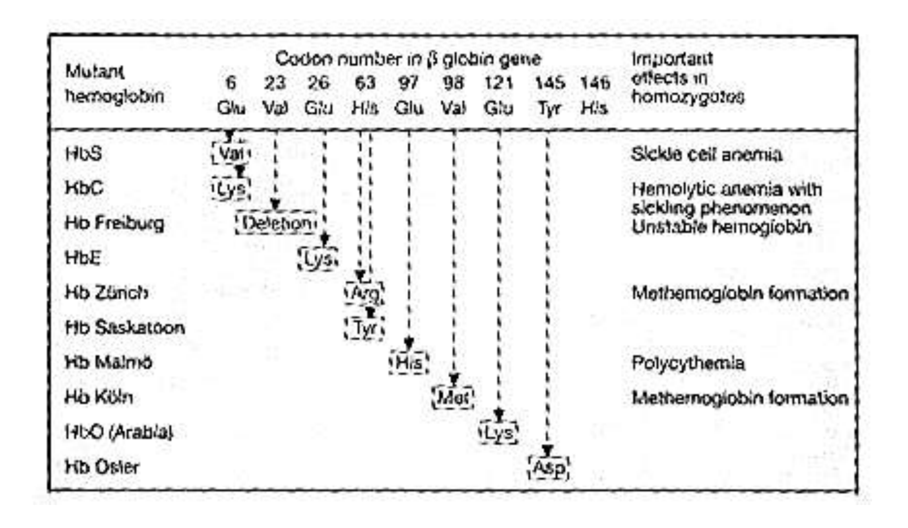
يؤدي ذلك إلى عدم انتظام ارتباط سلاسل الهيموغلوبين بالصورة الطبيعية بحيث تتشوه كريات الدم الحمراء وتصبح قابلة للهدم بسهولة وتقل قدرتها على نقل الغازات.

ويلاحظ أن الأفراد المصابين بهذا المرض ذوي هيئة وراثية متماثلة للمورث الطافر بيتا (Homozygous) ويرمز إليهمHbS / HbS. أما في الأفراد الذين لديهم مورث طافر مفرد بينما لا يزال لديهم مورث طبيعي آخر فيطلق

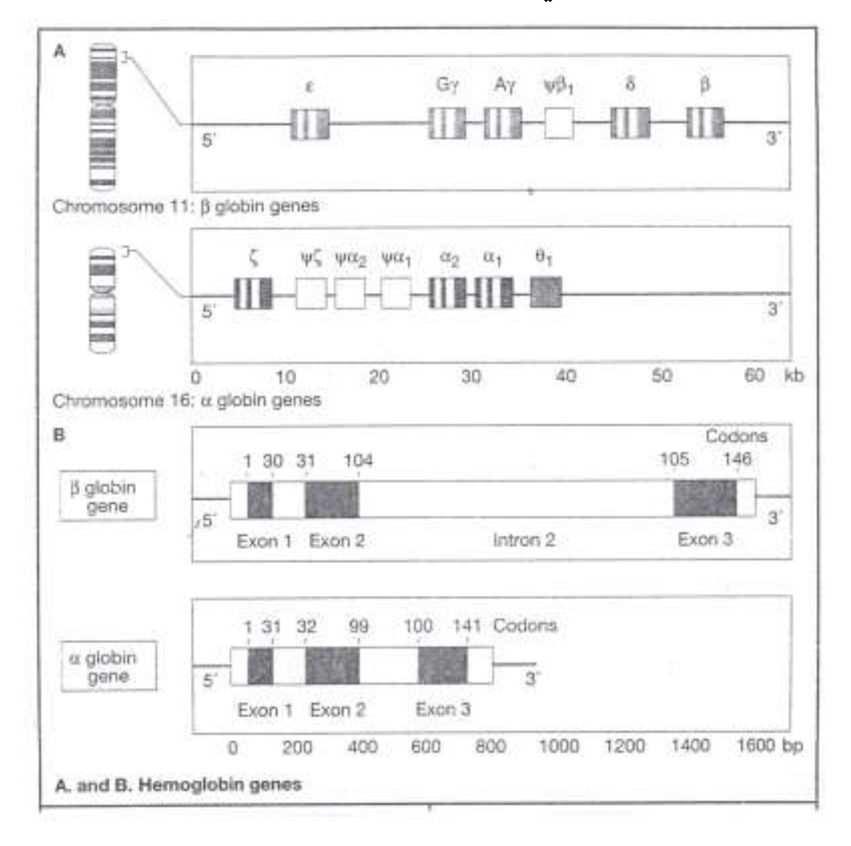
عليهم بالحـاملين للمـرض ويرمـز لهـم HbA / HbS لعدم تماثـل الهيئـة الوراثيـة للمـورث الطـافر (Heterozygous). لا يظهـر علـى هؤلاء (الحـاملين) أعـراض المرض وذلك لأن المورث بيتا الطبيعي ينتج ما يكفـي مـن سلاسـل عديـد الببتيـد بيتا الطبيعية بحيث يتم إهمال استخدام السلاسل الطافرة عند بناء الهيموغلوبين.

إضافة لهذا النوع من الطفرات الوراثية فإن هناك أنواعـاً أخـرى تحصـل فـي مواقـع مشـفرة أخـرى علـى نفس المـورث السـابق يمكـن ملاحظتهـا فـي الشـكل السابق.

شكل 3-5: الاستبدال الحاصـل فـي الشـفرة الوراثيـة السادسـة لمـورث سلسـلة عديـد الببتيـد بيتــا والمـؤدي إلــى فقــر الــدم المنجلــي. (اســتبدال الجلوتاميك بالفالين)



شكل 3-6: أنواع الهيموغلوبين غير الطبيعي والطفرات الوراثية المسببة لها وتأثيرها الطبي.



شـــكل 3-7:   موقـــع مورثـــات سلاســـل الهيموغلـــوبين علـــى الكروموسومات 11 و 16 والمحاور الأكثر تعرضاً للطفرات الوراثية في هذه المورثات.

تحليل وتحديد احتمالية الإصابة:

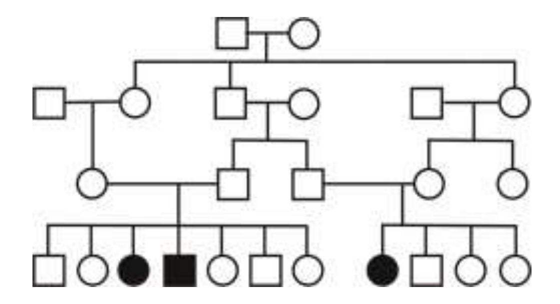
كما أسلفنا فإن الأمراض التي تتبع نمط التوارث الجسمي المتنحي لا تظهر إلا فـي الأفـراد المتمـاثلين فـي الهيـة الوراثيـة بمـورث طـافر, ويبـدو أن هـذه الأمراض ومن خلال السجلات العائلية تنتقل بصـورة أفقيـة بين الأجيال حيث تظهر إصابات متعددة خلال الجيل الواحد.

ولأجل توضيح ذلك نأخذ صفة الأمهق Albino الناتجـة عن طفرة وراثية جسمية متنحيـة تـؤدي إلـى عـدم تكـوين صـبغة الميلانـين فـي الخلايـا الجلديـة ومرض الصمم الخلقي Congenital Deafness الناتج عن طفرة وراثيـة جسمية متنحية أيضاً.

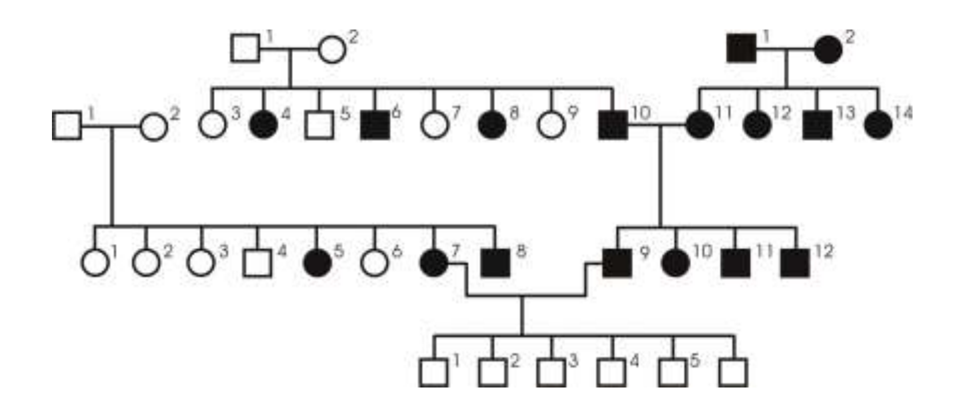
يلاحظ أن هذه الأمراض تظهر عن الأبنـاء فقط فـي حالـة أن الآبـاء حـاملين لصـفة المـرض. إذ تكـون فرصـة إنجـاب أبنـاء مصـابين بـهذه الأمـراض عندئذ 25% و 50% حاملين لصفة المرض و 25% طبيعيون مظهرياً ووراثيـاً. أمـا إذا كان الآباء مصابون فإن احتمالية إصابة الأبناء تصبح 100% ولا توجـد فرصـة لوجود أبناء حاملين لصفة المرض أو طبيعيون.

توضـح شـجرة العائلـة الأولـى (شكل 3-8) الأصـابة بصـفة الأمـهق ويلاحظ بأن هناك ثلاثة أفراد مصابون في الجيل الأخير. ونظراً لعدم وجود آباء مصابة بالمهق لذلك فإنه لا بد أن يكونـا حاملين لصفة المرض. أما الأبناء الطبيعيون في الجيـل الأخيـر فـإن بعـض منـهم ولا بـد أن يكـون حـاملاً لصـفة المـرض ويمكـن تحديد احتمالية الإصابة عند أبناء هؤلاء باستخدام معادلة مفكوك الحدين وعلـى اعتبـار أن فرصـة ولادة أطفـال طبيعيـون تكـون 75% (3/4) وأطفـال مصـابين 25% أو (1/4).

أما شجرة العائلة الثانية الخاصة بتوارث الصمم الخلقي (شكل 3-9) فإنه من الواضـح أن الآبـاء المصـابة تلـد أبنـاء مصـابين دون وجـود فرصـة ولادة أطفـال طبيعيون. ويمكن ملاحظة ذلك بوضـوح في الجيل الثـاني والثالث للآباء المصابة في الجيل الأول (3+4). أمـا الأفـراد المصـابون ولـديهم أشـقاء وشـقيقات طبيعيـة فإن آبائهم ولا شك حـاملين لصفة المرض (1+2 من الجيل الأول).



3-8: شجر عائلية توضح التوارث الجسمي المتنحي لصفة المهق Albino.
لاحظ ظهور صفة المهق في الجيل الرابع بعد تجمع الطفرة من الآباء الحاملين لها.



3-9 : شجرة عائلية توضح التوارث الجسمي المتنحي لمرض الصمم الخلقي Congenital deafness. لاحظ ظهور المرض عند أبناء الآباء 1 و2 من الجيل الأول والثاني والحالة الفريدة الناتجة من زواج الآباء 7 و9 من الجيل الثالث.

كما توضح هذه الشجرة حالة علمية فريدة وهو وجود أبناء طبيعيون لآباء مصابة بالمرض (7+9 من الجيل الثالث) على عكس ما هو متوقع. إذ إنه من المفترض إصابة جميع الأبناء بالصمم الخلقي. ويمكن تفسير هذه الحالة على أن الصمم الخلقي ينشأ من مورثين كل منهما بطفرة جسمية متنحية ومستقلين عن بعضهما وكل منهما قادر على الإصابة بالصمم. بمفرده مما يعني أن أحد الآباء

المصابة (7+9 من الجيل الثالث) كان متماثلاً في الهيئة الوراثية لمورث واحد طافر (لنفترض بأنه المورث A) وطبيعي للمورث الآخر (لنفترض بأنه المورث B) بينما يكون الأب الثاني طبيعي للمورث A وطافر للمورث B (على عكس الأب الأول).

ويمكن التحقق من هذا التفسير بتحليل الانقسام الاختزالي لهما وكذلك الاخصاب وكالتالي :

الأب المصاب الثاني AA bb × aa BB الأب المصاب الأول

الجاميتات 4Ab 4aB

الإخصاب 4 AaBb

أبناء طبيعيون حاملون لصفة المرض

وعلى ذلك فإن الأبناء الطبيعيون ذوي هيئة وراثية غير متماثلة للمورثين وبالتالي لم يصابوا.

ويمكن حساب احتمالية الإصابة بهذا المرض عند الأفراد الحاملين لصفة المرض باستخدام معادلة مفكوك الحدين لنسل مؤلف من ثلاثة أفراد وكالتالي:

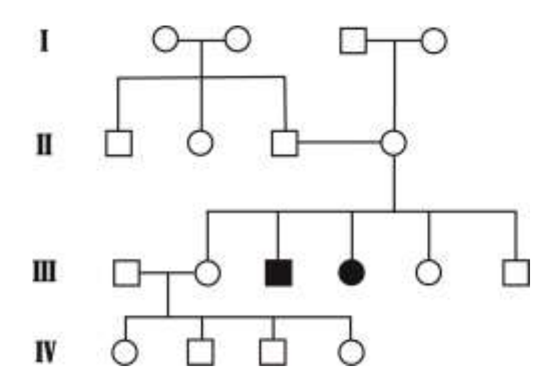
P = طبيعي   q = مصاب

$$q^3 + 3Pq^2 + 3P^2q + P^3 = (P+q)^3$$

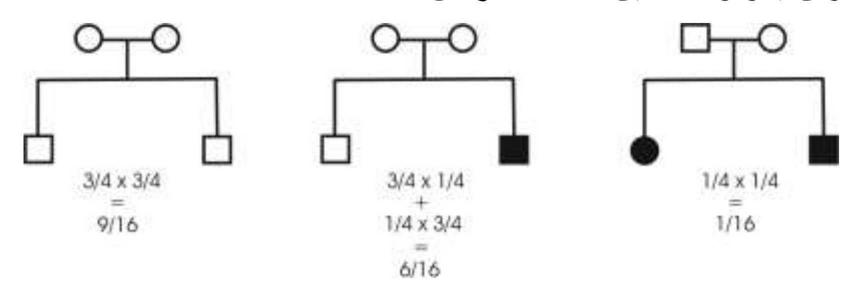
$$(1/4)^3 \quad 3 \times 3/4 \times (1/4)^2 \quad 3 \times (3/4)^2 \times 1/4 \quad (3/4)^3$$

2%   14%   42%   42%

ويلاحظ من النتائج بأن لا امكانية لتحديد عدد الأطفال الحاملين لصفة المرض حيث تعتمد هذه المعادلة على عاملين هما الإصابة بالمرض أو عدمها. أما في حالة مرض فقر الدم المنجلي فيلاحظ من شجرة عائلة المصابين (شكل 3-10) بعدم وجود آباء مصابة في الجيل الأول أو الثاني فيما يوجد أبناء مصابون في الجيل الثالث مما يؤكد بأن الآباء حاملون لصفة المرض. كما يوضح الشكل (3-11) احتمالية حصول آباء حاملين لصفة المرض على طفل مصاب بفقر الدم المنجلي من طفلين لهما.



شكل 3-10: شجرة عائلة مصابين بمرض فقر الدم المنجلي Sickle Cell Anemia يلاحظ بأن آباء الجيل الثاني للأبناء المصابين بالمرض لا بد وأن يكونوا حاملين لصفة المرض.



شكل 3-11: احتمالية الحصول على طفل أو طفلين مصابين بمرض يتبع نمط التوارث الجسمي المتنحي وذلك استناداً إلى معادلة مفكوك الحدين.


4
الفصل الرابع
الأمراض المرتبطة بكروموسوم X
X - Linked Disorders

الفصل الرابع

الأمراض المرتبطة بكروموسوم x

X – Linked Disorders

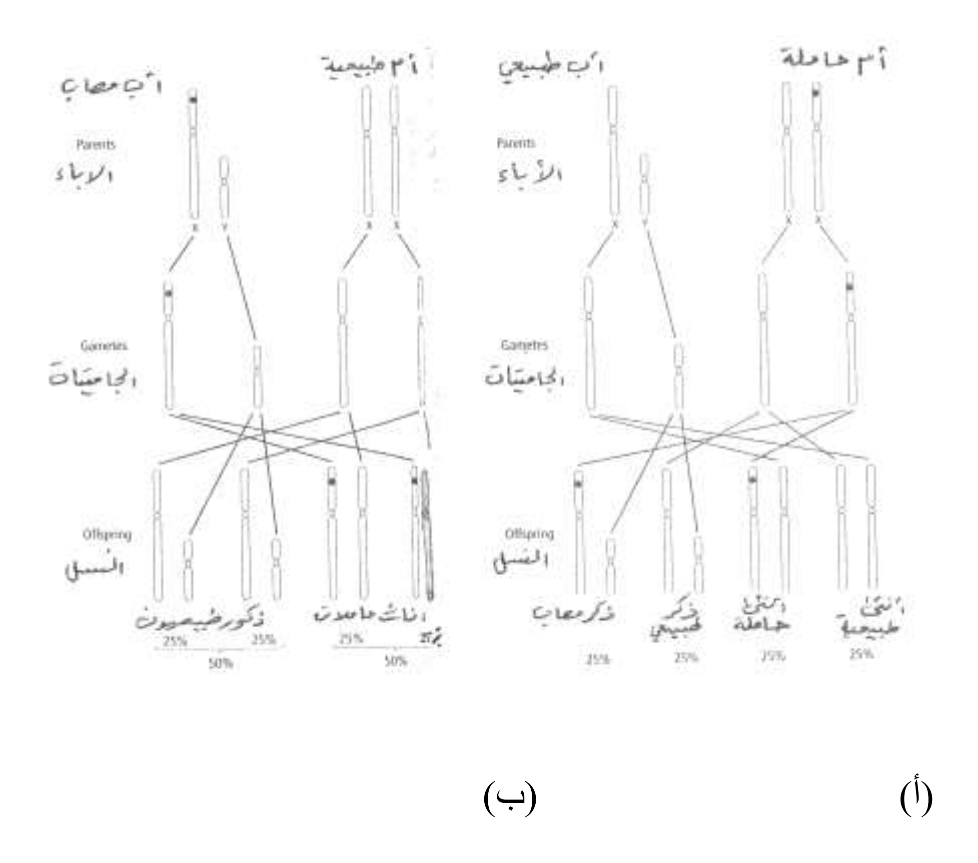
مقدمة

ترجع هذه الأمراض لوجود طفرات وراثية في مورثات تقع على كروموسوم X. يوجد هذا الكروموسوم في الخلايا الذكرية والأنثوية ولكنه يوجد على هيئة زوجية في الخلايا الأنثوية ومفرد في الخلايا الذكرية.

يثبط كروموسوم X الزائد في جميع الخلايا الجسمية الأنثوية عشوائياً ويبدو عند تصبيغ الخلايا على هيئة جسم كروماتيني دائري يدعى بجسم بار Barr Body ويحصل ذلك لخلق توازن فيعمل كروموسوم X في الخلايا الأنثوية مساوي لنشاط نفس الكروموسوم في الخلايا الذكرية.

يمرر الآباء كروموسوم X الخاص بهم إلى بناتهم بينما يستلم الأبناء كروموسوم Y ويستلم البنات كروموسوم X آخر من الأم.

يعتمد ظهور مرض ما مرتبط مع مورث طافر يقع على كروموسوم X على تنحي المورث أو سيادته. وعلى ذلك فإن هناك أمراض تتبع نمط التوارث الجنسي المتنحي أو الجنسي السائد (شكل 4-1). يمكن تميز هذين النمطين عن بعضهما من خلال طريقة توريث المرض. إذ تظهر هذه الأمراض عند الذكور فقط في حالة التنحي فيما تكون الإناث حاملات لصفة المرض وتكون احتمالية الإصابة عند الذكور تساوي 50% فيما تكون جميع الإناث طبيعيات وأن 50% منهن حاملات لصفة المرض. أما في حالة السيادة فإن الإناث والذكور تكون عرضة للإصابة بالمرض ويزداد عدد الإناث المصابة مقارنة بالذكور (شكل 4-2 وشكل 4-3). يشابه توارث الأمراض المرتبطة بكروموسوم X السائدة توزيع الأمراض ذات نمط التوريث الجسمي السائد ولكن عدم وجود انتقال صفة المرض من أب إلى ابنه مباشرة يوضح الارتباط السائد بكروموسوم X.

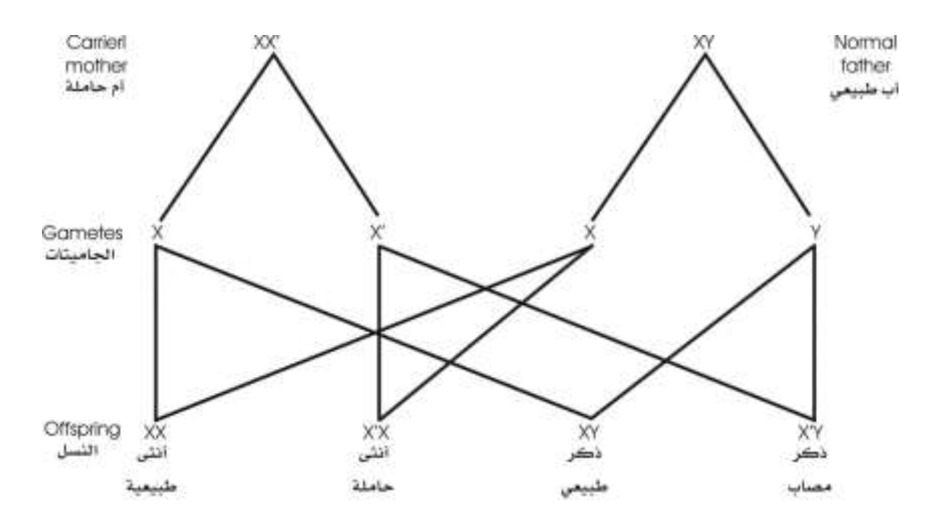


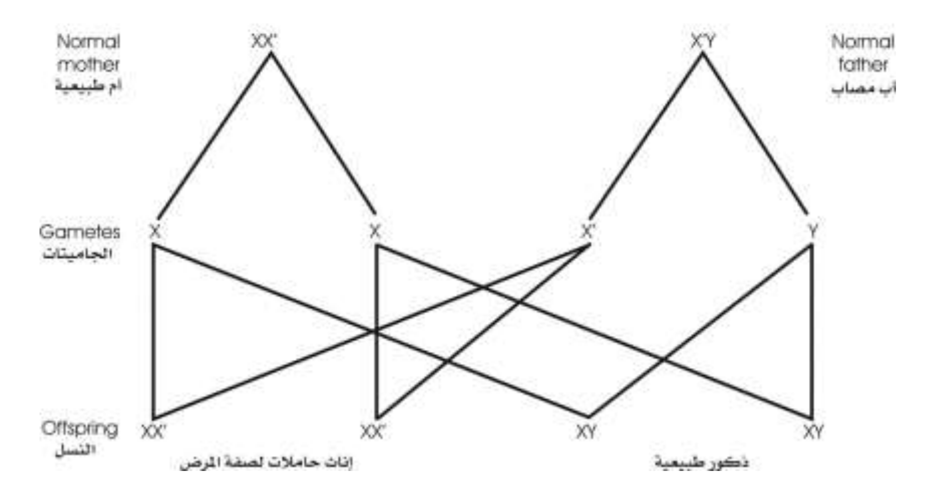
(أ) (ب)

شكل 4-1: آلية انتقال الأمراض المرتبطة بكروموسوم x.

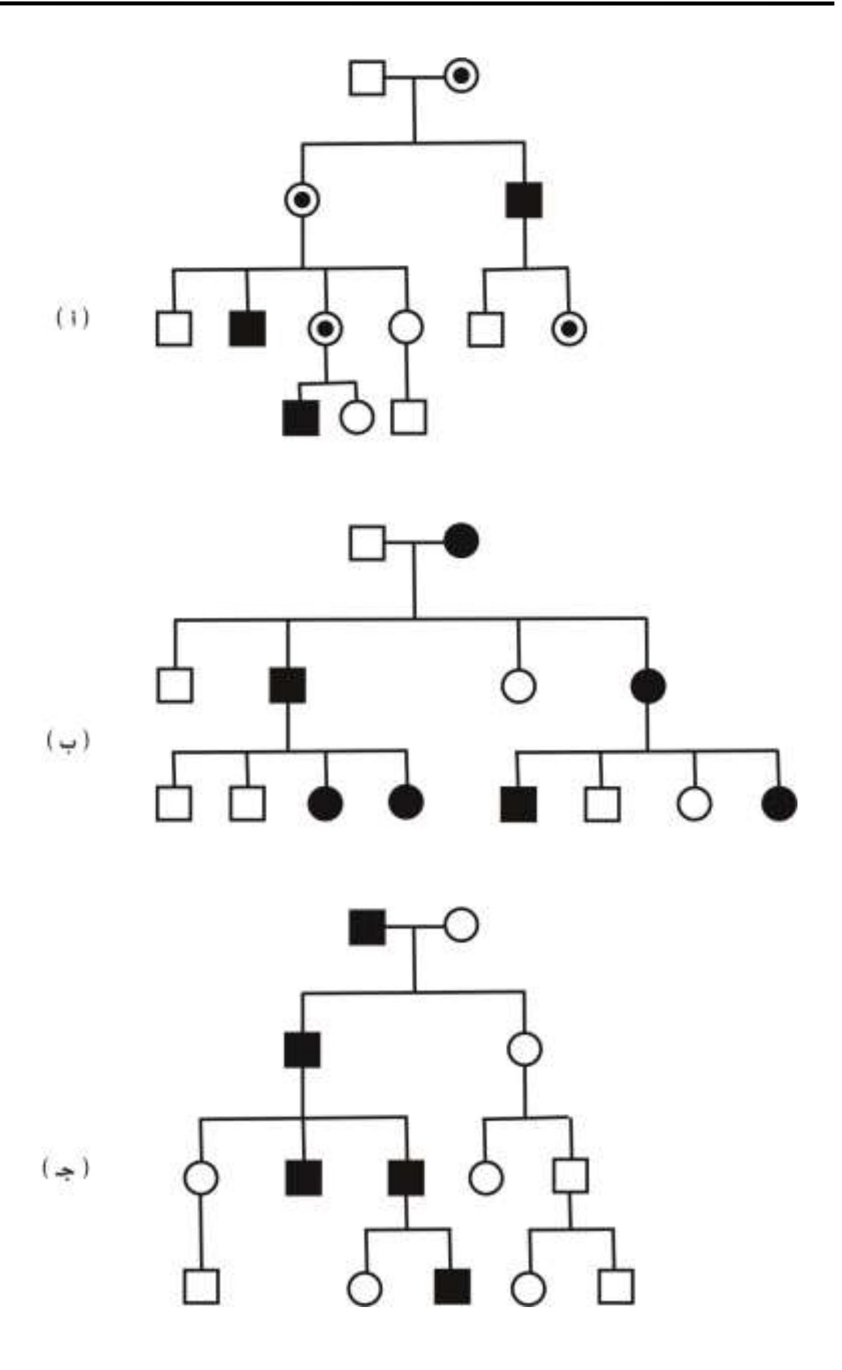
أ- في حالة التنحي

ب- في حالة السيادة


Carrierl mother
أم حاملة
XX'
XY
Normal father
أب طبيعي
Gametes
الجاميتات
X
X'
X
Y
Offspring
النسل
XX
أنثى
طبيعية
X'X
أنثى
حاملة
XY
ذكر
طبيعي
X'Y
ذكر
مصاب


Normal mother
أم طبيعية
XX'
X'Y
Normal father
أب مصاب
Gametes
الجاميتات
X
X
X'
Y
Offspring
النسل
XX'
XX'
XY
XY
إناث حاملات لصفة المرض
ذكور طبيعية

شكل 4-2: آلية انتقال الأمراض ذات نمط التوارث الجنسي المتنحي المرتبط بكروموسوم x من آباء مصابة إلى الأبناء. لاحظ اختلاف الإصابات في حالة إصابة الأم والأب بالمرض.



شكل 4-3: أشجار عائلية توضح نمط التوارث المرتبط بالجنس
أ. التوارث المرتبط بكروموسوم x المتنحي

ب. التوارث المرتبط بكروموسوم x السائد

ج. التوارث المرتبط بكروموسوم y

ولأجل توضيح هذين النمطين من التوارث المرتبط بكروموسوم X نأخذ مرض ضمور العضلات المعروف بمرض دوتشان Dutchenne DMD Muscular Dystrophy كمثال للأمراض المرتبطة مع مورث طافر متنحي مرتبط بالجنس ومرض الكساح المقاوم لفيتامين Vitamin D Resistant D Ricket المرتبط بمورث طافر سائد مرتبط أيضاً بكروموسوم X.

مرض ضمور العضلات – دوتشان:

يتبع مرض دوتشان نمط التوارث المتنحي المرتبط مع كروموسوم X ويصيب الذكور غالباً في عمر الطفولة ويؤدي إلى ضعف العضلات وينتهي بالمريض إلى الموت قبل بلوغه العشرين نتيجة لفشل القلب والرئتين.

ينشأ ضعف العضلات وضمورها في هذا المرض نتيجة لعدم انتاج بروتين الدستروفين Dystrophin أو إنتاج أنواع مشوهة غير وظيفية منه.

بروتين الدستروفين هو بروتين كبير الحجم يمثل فرداً في عائلة من البروتينات تسمى عائلة البروتينات السبكترينية والتي توجد جميعاً كجزء من الأغشية البلازمية للخلايا أو أجزاء داخلية مساندة مرتبطة مع هذه الأغشية.

يتألف بروتين الدستروفين من 3685 حامضاً أمينياً ويبلغ وزنه الجزيئي حوالي 427 كيلوداتن (KD). لهذا البروتين أربعة مواقع ارتباط مهمة هي: موقع الارتباط مع بروتين الأكتين, موقع ارتباط ثلاثي لبناء جديلة أو ظفيرة من الدستروفين وموقع غني بالحامض الأميني السستين وموقع النهاية الكاربوكسيلة C (شكل 4-4).

يوجد بروتين الدستروفين بشكل أساسي وكبير في الخلايا العضلية وبكميات قليلة في بعض الخلايا العصبية الدماغية والأعصاب وخلايا بركنجي والشبكية والرئتين والطحال والكبد والكلى.

ينتظم هذا البروتين في الخلايا العضلية عى هيئة ظفائر مزدوجة قصيرة تتوزع بالقرب من الأغشية البلازمية للخلايا. ويقدم هذا البروتين الإسناد والدعم للأغشية عبر ارتباطه مع عدة أنواع من البروتينات الجلايكونية الغشائية والبروتينات الداخلية. يوفر هذا الارتباط الشكل الطبيعي للخلايا واستقرارية عالية للأغشية البلازمية. كما يسهم في ربط قوى التقلص والانبساط العضلي الداخلية مع الخارج.

يـؤدي فقـدان هـذا البـروتين أو تشـوهه إلـى انهيـار الشـكل الطبيعـي للخلايـا العضـلية وانهيـار وظـائف الـتقلص والانبسـاط فيهـا ممـا يـؤدي إلـى ضـمور العضلات وعدم نموها وفي الحالات الشديدة توقفها عن العمل (شكل 4-5).

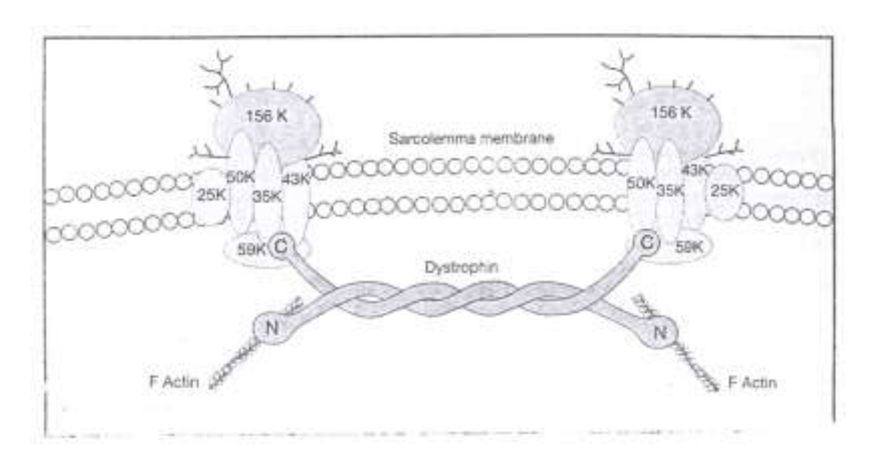
وصـفت أعـراض هـذا المـرض منـذ عـام 1861 مـن قبـل الفرنسـي دوتشـان Duchenne حيث يترافق في بداية الأمر مع ضعف كبير في عضـلات الأرجل ثـم الـذراعين والأسـناد الظهـري Pseudohypertrophy وتقعـر منطقـة الفقـرات القطنيـة Lumbers (Lordosis). لا يسـتطيع الأطفـال المصـابون بهـذا المـرض خلال العقد الأول من العمر الوقوف إلا بمساعدة الذراعين (Gower 's sign) ويحتاج معظمهم إلى كراسي متحركة بعد سن العاشرة. وينتهي حالة هؤلاء بالوفاة بعد العقد الثاني من العمر (شكل 4-6).

يمثل المورث المشفر لبروتين الدستروفين أكبر المورونثات البشرية حجماً حيث يتألف من 2400 كيلو قاعدة (kb) (حوالي 2.4 مليون زوج قاعدي)يقع ضمنها 79 محوراً تمثل 14 كيلو قاعدة بعد الاستنساخ.

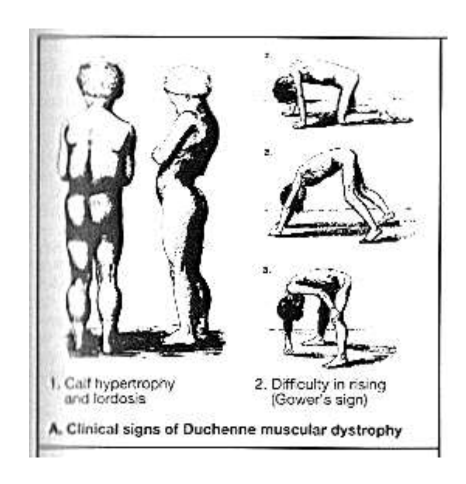
يقع هذا المورث في المنطقة الثانيـة مـن الحزمـة الأولـى مـن الـذراع القصـير لكروموسـوم X (XP21) وتشـمل هـذه الحزمـة عـدة مورثـات مهمـة أخـرى لهـا علاقة بعدة أمراض (شكل 4-7).

تـؤدي الأضـرار التـي تحصـل فـي هـذا المـورث إلـى غيـاب إنتـاج بـروتين الدستروفين أو إلى إنتاج أنواع مشوهة لا وظيفة منـه. تؤدي جميعاً إلـى فقدان الخلايا العضلية لمعظم قدراتها على التقلص والانبساط والنمو.

شكل 4-4 : نموذج جزيئة الدستروفين موضحاً فيه مواقع الارتباط.

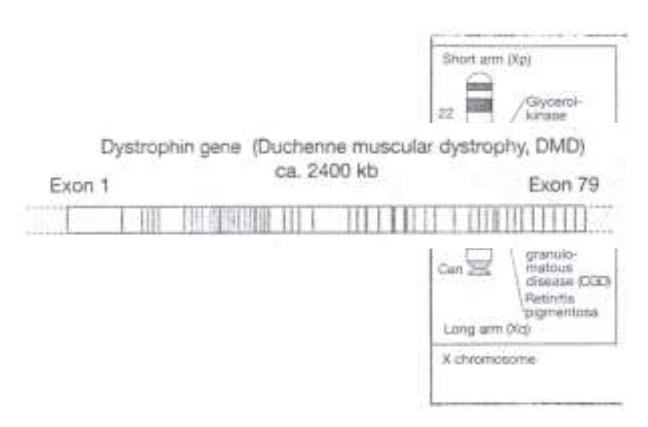


شكل 4-5: موقع الدستروفين ومواقع ارتباطاته الداخلية والغشائية.



شكل 4-6: الأعراض السريرية لمرض ضمور العضلات – مرض دوتشان.

لاحظ عدم القدرة على الوقوف إلا بمساعدة اليدين وتقعر الفقرات القطنية



شكل 4-7: تركيب مورث الدستروفين المسؤول عن مرض الضمور العضلي (مرض دوتشان) وموقعه على الذراع القصير لكروموسوم x.

تتراوح الأضرار الوراثية المسجلة في هذا المورث بين الحذف Deletion وطفرات وراثية مفردة. إذ وجد بأن 60% من المرضى لديهم حذف في الثلث الأمامي من النهاية الخامسة للمورث فيما كان الحذف في منتصف المورث بين المحور 44 والمحور 45 عند 40% من المصابين.كما شخصت طفرات وراثية مفردة في بعض المصابين وتضاعف في المحاور عند البعض الآخر.

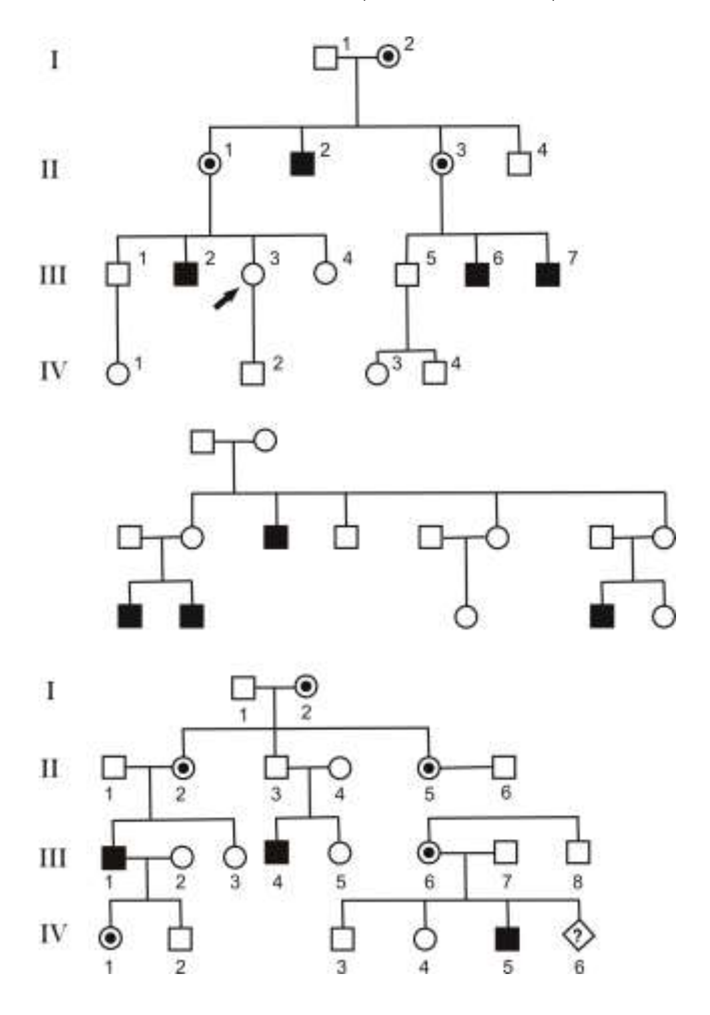
يتنحي مورث الدستروفين المتضرر عند وجود النظير الطبيعي ولا تظهر أعراض للمرضى. ونظراً لأن المورث موجود على كروموسوم X لذلك فإنه في حالة وجود المورث المتضرر عند الذكور (كروموسوم X مفرد لديهم) فإنهم في هذه الحالة يصابون بالمرض دون الإناث.

يمثل الشكل (4-8) السجلات العائلية لمرضى مصابون بضمور العضلات (مرضى دوتشان). تمثل هذه الأشجار العائلية السلوك التقليدي للصفات المتنحية المرتبطة مع كروموسوم X فجميع المصابون ذكور لأمهات طبيعيات حاملات لصفة المرض. ويمثل الشكل (4-1 , 4-2) الطريقة التي يتم فيها توارث هذا المرض.

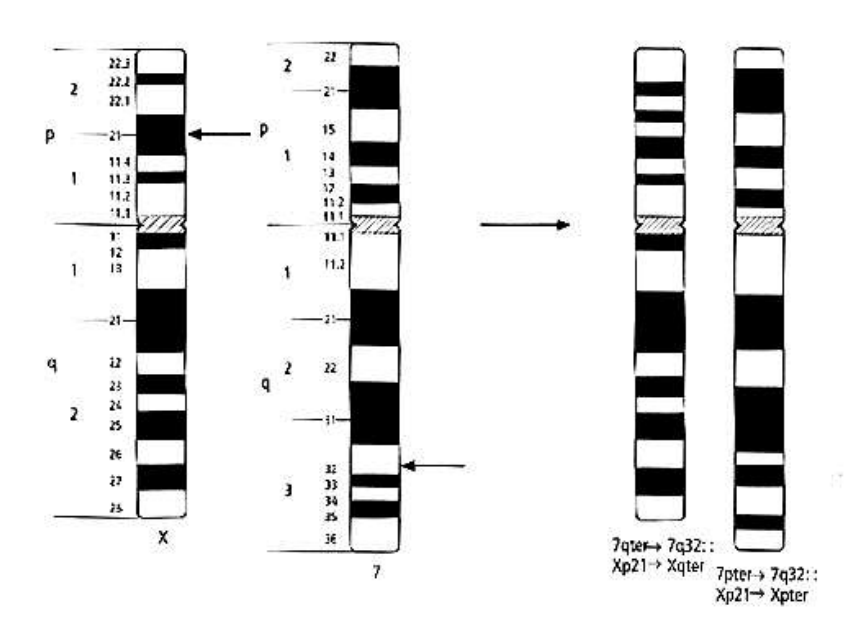
إن التزاوج الشائع في مثل هذه الأمراض (المتنحية) هو زواج سيدة حاملة لصفة المرض من رجل طبيعي. واستناداً إلى ذلك فإن 50% من الذكور من أبناءهم ستكون مصابة بالمرض لانتقال كروموسوم X الحامل للمورث الطافر إليهم من الأم والنصف الآخر من الذكور تكون طبيعية لانتقال كروموسوم X الطبيعي إليهم من الأم أيضاً.

أما الإناث في الذرية فلا تصاب منهن أحد ويكنّ طبيعيات إلا أن 50% منهن حاملات لصفة المرض لانتقال كروموسوم X غير الطبيعي إليهن من الأم والنصف الآخر طبيعيات مظهرياً ووراثياً.

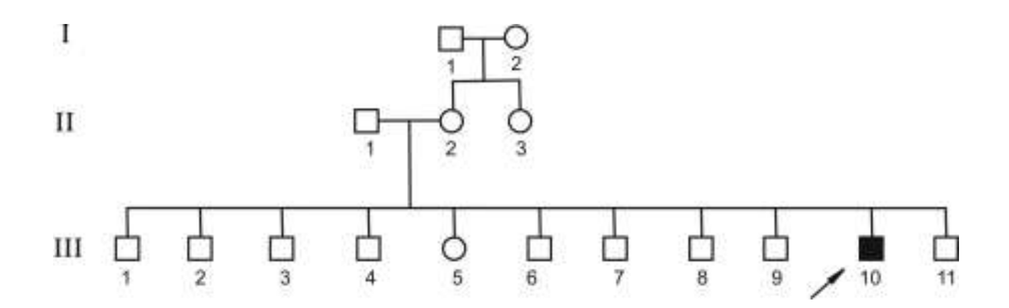
إنه من النادر زواج رجل مصاب بإمرأة حاملة لصفة المرض ولكن احتمالية إصابة أبناء لزوج حامل وآخر طبيعي يمكن تحديدها من معادلة مفكوك الحدين حيث P تساوي 3/4 و q تساوي 1/4.



شكل 4-8: ثلاثة أشجار عائلية لثلاثة مصابين بمرض ضمور العضلات – دوتشان. لاحظ إصابة الذكور دون الإناث وانتقال المورث المتضرر من الأمهات الحاملات لصفة المرض لأبناءها من الذكور.



شكل 4-9:   انتقال كروموسومي بين كروموسوم x وكروموسوم 7 عند انثى مصابة بضمور العضلات – مرض دوتشان وهي حالة نادرة تصاب فيها الإناث.



شـكل 4-10:   شــجرة عائليــة لمصـــاب بمـرض ضــمور العضــلات (دوتشان) ويلاحظ الحالـة المنفردة فـي العائلـة والتـي تعزى علـى الأغلـب إلى طفرة وراثية في المريض دون وجودها عند الآباء.

Disease	Chromosomal Iocation
X-chromosomal:	
Muscular dystrophy Duchenne	Xp21.2
Muscular Dystorphy Beaker (allelic with DMD)	Xp21.2
Muscular dystrophy Emery – Dreifuss	Xp28
Autosomal dominant:	
Myotonic dystrophy	19q13
Facioscapulo-humeral dystrophy	4q35-qter
Oculo-pharngeal muscular dystrophy	Unknown
Autosomal recessive:	
Duchenne-like muscular dystrophy	13q12-13
Congenital muscular dystrophy-type Fukuyama	9q31-33
Limb-girdle muscular dystrophy	15q15-q22.other loci

جدول 4-1:   أنوع من أمراض ضـمور العضـلات ومواقـع المورثـات المسببة لها.

جدول 4-2:   بعض الأمراض البشرية المرتبطة بكروموسوم X.

نمط التوارث	المرض أو الصفة
R	**Anhidrotic ectodermal dysplasia**
R	**Becker's muscular dystrophy**
R	**Colur blindness**
R	**Duchenne muscular dystrophy**
R	**Fabry's disease**
R	**Fragile X Syndrome**
R	**Glucose 6-Phosphate dexydrogenase**

Haemophilia A.B (V111.1X)	**D**
Hunter Syndrome	**D**
Incontinentia pigmenti	**D**
Lesch-Nyhan Syndrome	**D**
Menke's Syndrome	**D**
Mental retardation with or without fragile site	**D**
Orofaciodigital syndrome	**D**
Ocular albinism	**D**
Ricket, resistant to viamin D	**D**
Spino – bulbar muscular atrophy (Kennedy)	**-**
Favism	**R**
Primaquine response	**R**
Xg blood group	**D**
Variant of hereditary motor and Sensory neuropathy	**D**

D: Dominant : سائد R: Recesive : متنحي

كما أسلفنا فإن 50% من الإناث حاملات لصفة المرض و 50% طبيعيات ولكن في بعض الحالات تعاني بعض الإناث الحاملات من أعراض خفيفة للمرض عند أداء بعض التمارين الرياضية أو أثناء الحمل. وفي حالات نادرة يمكن أن تصاب الإناث بهذا المرض نتيجة لحصول طفرة وراثية ثانية في كروموسوم X الطبيعي أو إصابة هؤلاء بتناذر تيرنر Turner Syndrome (45.X) إضافة لكونهن حاملات لصفة مرض دوتشان أو وجود تثبيط تام لكروموسوم X الطبيعي. (تحوله إلى جسم بار) (Lyonization) تاركاً كروموسوم X الحامل لصفة المرض شكل (4-9).

في بعض حالات هذا المرض يصاب ذكر واحد فقط من مجموعة من الأبناء الطبيعيين لعائلة معينة (شكل 4-10) في مثل هذه الحالة فإن هناك احتمالية قدرها الثلث بأن مثل هذه الاصابة ترجع لطفرة وراثية جديدة لدى الفرد المصاب ويستوجب ذلك إجراء فحوصات لقياس مستوى إنزيم كرياتين كاينيز Creatine Kinase CK للفصل في ذلك حيث يرتفع مستوى هذا الإنزيم في مصل الدم بصورة طفيفة عند الأم الحاملة للصفة وكثيراً عند المصابين.

ويذكر بأن هناك نوع من ضمور العضلات يدعى مرض بيكر Becker M.D يرجع إلى طفرات وراثية مفردة في مورث الدستروفين (جدول 4-1). إضافة لمرض دوتشان فهناك 2/4 صفة بشرية متنحية مرتبطة مع كروموسوم X (جدول 4-2).

مرض الكساح المقاوم لفيتامين Vitamin D Resistant Ricket : D

أما مرض الكساح الناتج عن مقاومة فيتامين D فإنه مثال تقليدي للأمراض السائدة المرتبطة مع كروموسوم X. يتصف المرضى المصابون بهذا المرض بقصر القامة والتواء ظاهر في عظام الساقين (Hyperphosphatemia) ونقص في مستوى الفوسفات في الدم وزيادة إفرازه في البول.

ينشأ هذا المرض نتيجة لنقص الكالسيوم والفوسفات لعدم امتصاص الكالسيوم من الأمعاء وتسرب الفوسفات إلى البول. ويرجع سبب عدم امتصاص الكالسيوم نتيجة لعدم وجود المركب 1.25 DCC. اللازم للنقل الفعال لأيونات الكالسيوم.

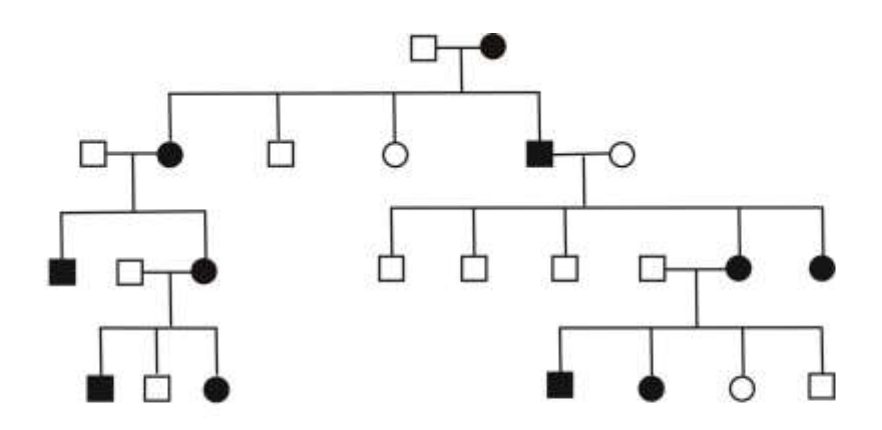
ينتج مركب 1.25 DCC من تحطم فيتامين D ونتيجة لوجود طفرة وراثية في المورث المشفر لإنزيم تحلل هذا الفيتامين. لذلك فإنه يبقى دون تحلل مما يعني توقف تزويد الخلايا بالمركب 1.2 DCC وبالتالي توقف امتصاص الكالسيوم.

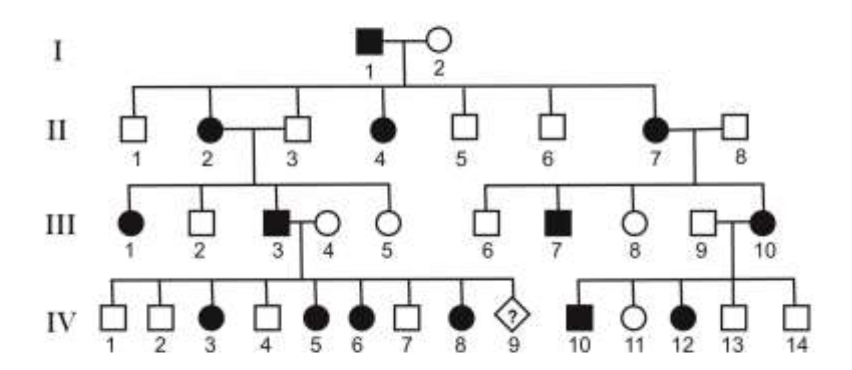
تظهر أعراض هذا المرض على الذكور والإناث على حد سواء وتكون الأعراض حادة عند الذكور فيما تزداد نسبة الإصابة عند الإناث وتختلف حدة المرض عندها اعتماداً على الكروموسوم المثبط. وترجع الزيادة في نسبة المصابات من الإناث لأن الإصابة عند الذكور تكون مميتة مما يقلل من الذكور في النسل.

الأشكال (4-11) توضح نمط توارث مرض الكساح المرتبط مقاومة فيتامين D. ويلاحظ بأن نسبة الإصابة عند الإناث عالية.

تعطي هذه الأشجار انطباعاً أولياً بأن نمط هذا التوارث هو جسمي سائد ولعدم انتقال صفة المرض من الآباء إلى الذكور من أبناءهم فإن نمط التوارث يكون مرتبطاً بكروموسوم X سائد.

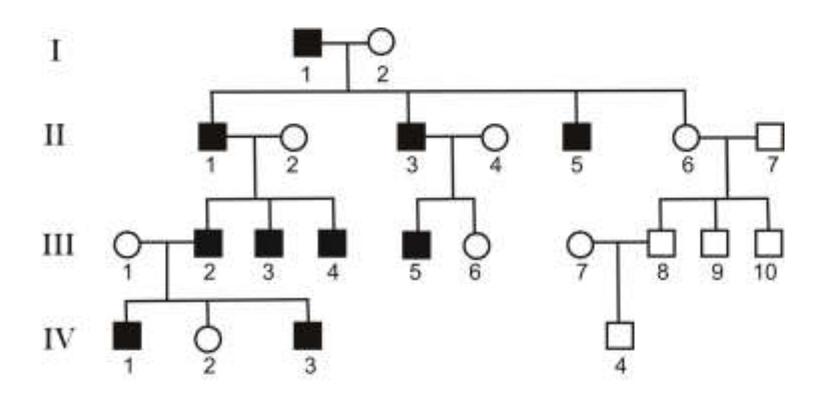
أما الارتباط مع كروموسوم Y فلا توجد أمراض تتبع نمط توارثه ولكن يمكن متابعة بعض الصفات البشرية المرتبطة مع كروموسوم Y من خلال الأشكال (4-3 و 4-12).

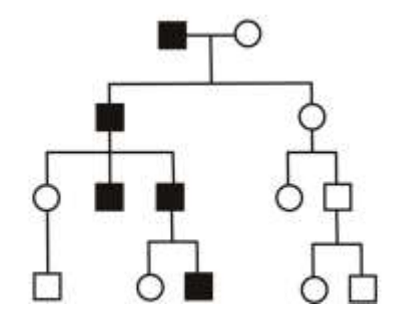




شكل 4-11: أشجار عائلية لمصابين بمرض الكساح الناتج عن مقاومة فيتامين D.

Vitamin D resistant ricket ويلاحظ إصابة الذكور والإناث بالمرض على حد سواء وزيادة أعداد الإناث المصابة مقارنة بالذكور.





شكل 4-12: أشجار عائلية توضح انتقال صفة الأذن المشعرة المرتبطة مع كروموسوم Y.

لاحظ انتقال الصفة من الأب مباشرة للأبناء من الذكور فقط.


5
الفصل الخامس
التحليل الخلوي والوراثي لبعض الأمراض ذات نمط
التوريث الجسمي والجنسي
Cellular and Genetical Analysis Of Some
Autosomal and X-Linked Diseases

الفصل الخامس

التحليل الخلوي والوراثي
لبعض الأمراض ذات نمط التوريث
الجسمي والجنسي

Cellular and Genetical Analysis

Of Some Autosomal and X-Linked Diseases

أمراض عدم تخثر الدم – سيولة الدم (الهيموفيليا)

Haemophilia

عُرف مرض سيولة الدم منذ القدم حيث وردت عبارات في التلمود توضح زيادة حصوله في الذكور وقد تبين حديثاً ارتباط هذا المرض بكروموسوم X.

تنتج سيولة الدم بسبب نقص في أحد عوامل تخثر الدم المؤلفة لشلال التخثر, ويعتبر نقص عامل التخثر الثامن والتاسع أهم العوامل المؤدية إلى سيولة الدم A و B على التوالي.

يتألف العامل الثامن في الحالة غير النشيطة من ثلاث تحت وحدات مترابطة هي A , B , C وعند تثبيط هذا العامل بالثرومبين Thrombin فإن بعض تحت وحداته تنتظر ليتألف العامل من خمسة تحت وحدات وهي A1 , A2 , A3 , C1 , C2 ترتبط جميعاً بأيون كالسيوم مركزي يعمل عندئذ كمساعد أنزيمي لتنشيط عامل التخثر العاشر المرحلة الوسطية من شلال التخثر.

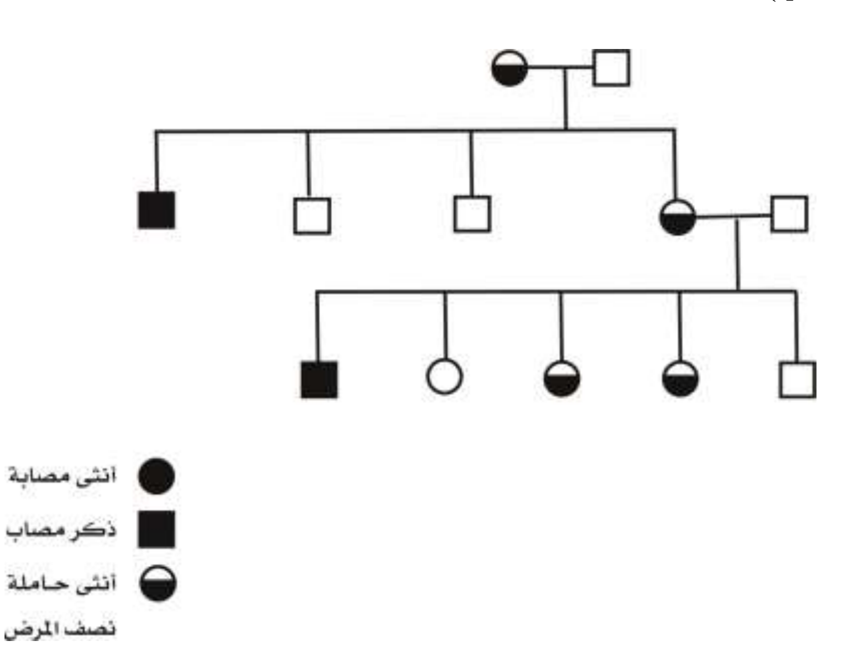
يقع المورث المشفر لعامل التخثر الثامن على الذراع الطويل لكروموسوم (Xq2.8X) ويتألف من 26 محوراً تشغل 186 كيلو قاعدة. إن أغلب الطفرات الوراثية التي شخصت في هذا المورث تشمل موقع التردد TCGA وأن بعض هذه الطفرات يؤدي إلى إنتاج شفرات توقف TGA وهو ما يؤدي إلى إنتاج بروتين قصير غير فعال تظهر من خلاله حالة حادة من سيولة الدم A (تلك التي تنتشر عند بعض العوائل المالكة الأوروبية). يبلغ تكرار الإصابة بهذا المرض حوالي 1 لكل 10.000 فرد وتعتمد حدة المرض على نوع الطفرة الوراثية (شكل 5-1 وشكل 5-2).

إضافة لذلك فإن هناك عاملاً آخر له علاقة بالعامل الثامن وهو عامل فون ويليبراند Von Willebrand Factor الذي يؤدي إلى حالة ثانوية من نقص العامل الثامن. يوجد عامل فون ويليبراند كبروتين في البلازما والصفائح الدموية والأنسجة الرابطة ويعمل على تكوين جسور بين الصفائح الدموية والمناطق الوعائية المتضررة وكذلك يوفر استقرارية للعامل الثامن أثناء عمله.

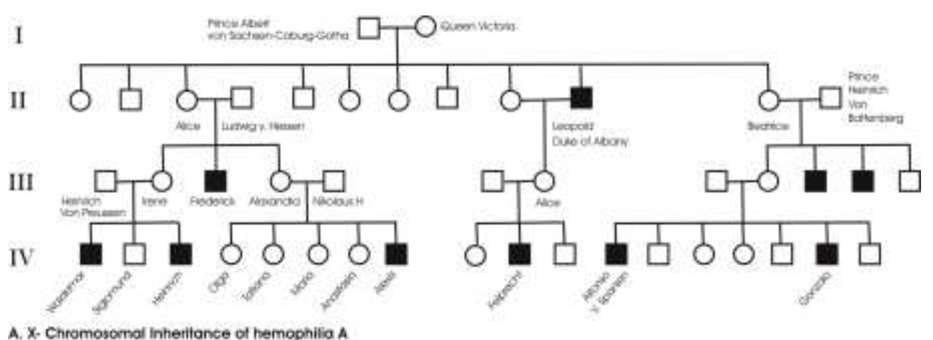
يبلغ طول المورث المشفر لهذا العامل حوالي 178 كيلو قاعدة ويحتوي على 52 محوراً ويقع على كروموسوم 12 (12-pter P 12) جميع الطفرات الوراثية التي تحصل في هذا المورث جسمية ومعظمها طفرات جسمية سائدة باستثناء الطفرات 111C , 111 التي تكون متنحية.

أما نقص العامل التاسع 1X والذي يطلق على المرض الناتج بمرض كرسماس أو هيموفين (Christmas Disease) فإنه مشابه لنقص العامل الثامن ويمثل خمس حالات سيولة الدم. يقع المورث المشفر لعامل التخثر

التاسع مجاور تماماً لمورث العامل الثامن على كروموسوم X (Xq2.6-q2.71) إلا أنه أصغر حجماً من مورث العامل الثامن.



شكل 5-1: شجرة عائلة توضح توارث مرض سيولة الدم A يلاحظ أن الصفة متنحية مرتبطة بكروموسوم X.



شكل 5-2: تورث مرض سيولة الدم A في العائلة المالكة البريطانية ويلاحظ إصابة الذكور فقط (المربع الأسود) دون الإناث .

الثلاسيميا Thalassemia:

ينتشر هذا المرض بشكل رئيسي في مناطق حوض البحر المتوسط وكذلك جنوب شرق آسيا ومناطق داخلية من إفرقيا (جدول 5-1).

تؤدي الإصابة بهذا المرض إلى أنواع مختلفة من الثلاسيميا تتراوح بين المتوسطة والشديدة تبعاً لسبب المرض وتؤدي إلى تضخم الطحال والكبد بشكل ملفت للنظر إضافة لتدمير مستمر في كريات الدم الحمراء مما يستدعي نقل الدم إلى المرضى من حين إلى آخر. علماً أن بعض الحالات الشديدة تؤدي إلى الإجهاض أو الموت المبكر.

ترجع أسباب ظهور هذا المرض إلى عدم إنتاج سلاسل عديد الببتيد ألفا أو بيتا أو إنتاج سلاسل مشوهة بشكل كبير بحيث لا يمكن استخدامها في بناء الهيموغلوبين. ويعزى عدم إنتاج سلاسل الهيموغلوبين أو إنتاج أنواع مشوهة منها إلى حصول فقدان كامل لمورثات السلاسل أو بعضها أو وجود طفرات وراثية واسعة في هذه المورثات.

وتبعاً لنوع سلاسل عديد الببتيد المفقودة أو المشوهة فإن هناك نوعان من الثلاسيميا وهي ثلاسيميا ألفا Thalassemia - α الناتجة عن فقدان أو تشوه سلاسل ألفا وثلاسيميا بيتا Thalassemia - β الناتجة عن فقدان أو تشوه سلاسل بيتا في الهيموغلوبين ويتبع النوعان التوارث الجسمي المتنحي.

الثلاسيميا ألفا Alpha Thalassemia:

ترجع أسباب هذا النوع من الثلاسيميا إلى فقدان أو حذف اليل واحد أو أكثر من الاليلات الأربعة التي تشفر لسلاسل عديد الببتيد ألفا والتي تقع على كروموسومي 16 (اليلان لكل كروموسوم) ونتيجة لاختلاف عدد الاليلات المحذوفة فإن هناك اختلاف في شدة الإصابة بالمرض.

ويذكر بأن الثلاسيميا عموماً تخضع للتوارث الجسمي المتنحي. وأن توقف أحد مورثات ألفا لا يؤدي إلى ظهور أعراض المرض ويسمى الأفراد الحاملة لهذا الحذف بالأفراد الحاملة الصامتة Silent Carriers. أما في حالة فقدان أو توقف إثنان من الاليلات فإن الأفراد الحاملة تصاب بأعراض خفيفة من الثلاسيميا نتيجة لانخفاض أعداد الخلايا الحمراء في الدم ويدعى هؤلاء بالحاملين لصفة المرض Thalassemia Trait. أما في الحالات الشديدة من الثلاسيميا فإنها تنشأ عن فقدان ثلاثة اليلات وتعرف

مثل هذه الحالة Hb-H أو فقدان جميع الاليلات وتؤدي هذه إلى الإجهاض أو الوفاة المبكرة وتدعى هذه الحالة Hb-Bart's .

تنتج حالات فقدان الاليلات هذه نتيجة للعبور غير المنتظر بين الاليلات ألفا 1 واليلات ألفا 2 ولم تسجل طفرات وراثية في هذه اليلات تؤدي إلى هذا المرض (جدول 5-1).

جدول 5-1: الهيئات الوراثية للأفراد المتأثرين بالثلاسيميا ونوع الأمراض الناتجة وشدة أعراضها.

الأعراض والمرض	الطــراز الــوراثي (الهيئة الوراثية)
ثلاسيميا صامتة/الأفراد طبيعيون/ أنيميا بسيطة حذف اليل واحد	$-\alpha/\alpha\alpha$
ثلاسيميا صامتة/الأفراد طبيعيون/ أنيميا بسيطة حذف اليلين ويدعى الأفراد حاملين لصفة المرض Th.Traits	$--/\alpha\alpha$ أو $-\alpha/-\alpha$
ثلاسيميا تحللية/مرض شديد/ أنيميا حادة حذف ثلاث اليلات	$--/-\alpha$
ثلاسيميا تحليلية (Hb-Bart's)/شديدة الأعراض حذف أربعة اليلات وأنيميا حادة قاتلة / اجهاض الأجنة	$--/--$
ثلاسيميا كبرى/الأعراض شديدة وقاتلة عدم إنتاج سلاسل بيتا	β^o/β^o
ثلاسيميا كبرى/الأعراض متوسطة إنتاج سلاسل بيتا مشوهة	$\beta^+/\beta+$
ثلاسيميا كبرى/الأعراض شديدة وقاتلة إنتاج سلاسل بيتا مشوهة وقليلة	β^+/β^o
ثلاسيميا صغرى/أعراض بسيطة إنتاج سلاسل بيتا طبيعية وأخرى مشوهة	β^+/β
ثلاسيميا صغرى/أعراض بسيطة إنتاج سلاسل بيتا طبيعية أقل من الطبيعي	β^o/β

ثلاسيميا بيتا **Beta Thalassemia** :

يعتبر هذا النوع من الثلاسيميا أكثر انتشاراً بين سكان مناطق البحر المتوسط من النوع السابق. تظهر الأعراض الحادة للمرض بعد عدة

أسابيع من الولادة وتشمل هذه وجود خلايا دموية غير ناضجة مثل الخلايا الشبكية Reticulocytosis والخلايا الحمراء النووية وخلايا تدعى بالمستهدفة Traget Cells. إضافة لمشاكل في الكبد والطحال وتؤدي هذه الأعراض إلى الموت خلال فترة الرضاعة أو الطفولة نتيجة لفشل القلب وقصور الكبد وفقر الدم الحاد. وقد تظهر على بعض الأطفال المصابين أعراض تناذر داون وخصوصاً ملامح الوجه. يقع المورث المشفر لسلاسل بيتا على الذراع القصير لكروموسوم 11. ولقد شخص عدد كبير من الطفرات الوراثية الكمية في المورث المشفر لسلاسل عديد الببتيد وتؤدي معظم هذه الطفرات إما إلى إيقاف عمل المورث تماماً إو إعاقة عمله وإنتاج سلاسل غير طبيعية ولا وظيفية. وتبعاً لسبب الثلاسيميا فإن أعراض هذا المرض يمكن أن تكون خفيفة أو متوسطة أو شديدة. وتسمى الثلاسيميا في حالة فقدان سلاسل عديد الببتيد بيتا بالثلاسيميا بيتا صفر β^o - Thalassemia أما في حالة وجود سلاسل عديد الببتيد بيتا غير ناضجة أو مشوهة فيسمى المرض بالثلاسيميا زائد β^+ - Thalassemia أو لعدم تماثلها Heterozygous تكون شدة المرض. ففي الأفراد الأصلية لفقدان مورث بيتا (متماثلة) تكون شدة المرض عالية وخطرة وتسمى الحالة بالثلاسيميا الكبرى β-Thalassemia وتشمل حالة فقر دم شديد وحاد وتسمى أيضاً بأنيما كولي Coley’s Anemia وتبدأ أعراضها في الغالب على الأجنة قبل الولادة. يختفي في المصابين بالثلاسيميا الكبرى أو أنيميا كولي الهيموغلوبين Hb-A بينما تحمل كريات الدم الحمراء الهيموغلوبين Hb-F ونسبة قليلة من الهيموغلوبين Hb-A2. يؤدي توقف إنتاج سلاسل عديد الببتيد بيتا في الخلايا إلى زيادة إنتاج سلاسل عديد الببتيد ألفا التي تترسب في الخلايا وتؤدي إلى زيادة سرعة تحطم الخلايا الحمراء وتنتهي أغلب حالات هذا النوع من الثلاسيميا بالموت خلال العقد الأول من الحياة.

أما في الأفراد الخليطة أو غير المتماثلة في الطفرة (β^o/β^+ أو β^+/β) فإن المرض يكون لديهم بسيط الأعراض غالباً ويسمى بالثلاسيميا الصغرى β- Thalassemia حيث يكون أغلب الهيموغلوبين الدموي من النوع الطبيعي Hb-A ونسبة بسيطة من الهيموغلوبين Hb-F (2-3%) والهيموغلوبين Hb-A2 (4-7%).

كما أن هناك نوعاً نادراً من الثلاسيميا يتميز بنقص في سلاسل عديد الببتيد بيتا وسكما وتكون هذه حادة وشديدة في حالة تماثل الطفرة الوراثية.

أمراض تخزين السكريات المتعددة المخاطية

Mucopolysaccharide Storge Diseases

تشمل هذه الأمراض جميع العيوب الناتجة عن فقدان أو عطب إنزيم من أنزيمات اللايسوسومات – الأجسام الحالة. ينشأ فقدان أو عطب أنزيم أو أنزيمات حالة نتيجة لوجود طفرات وراثية جسمية أو جنسية متنحية في المورثات المشفرة لهذه الأنزيمات.

تؤدي مثل هذه العيوب إلى توقف تحليل العديد من المركبات والتي تتجمع داخل الخلايا مؤدية إلى الأضرار في عمليات الأيض الأخرى. وفي بعض هذه الحالات تلجأ الخلايا إلى تخزين هذه المواد داخل سايتوبلازمها على هيئة فجوات غذائية أو تخزينية وهو ما يؤدي إلى ظهور أعراض مرضية مميزة لكل نوع من الأضرار الأنزيمية.

تعتبر اللايسوسومات Lysosomes من العضيات السايتوبلازم المهمة في الخلايا لعلاقتها الوطيدة في عملية تحليل العديد من المركبات العضوية. ولم تكن هذه العضيات معروفة قبل عام 1949 حيث تم الإحساس بوجودها دون رؤيتها أثناء الدراسات الكيميائية التي أجريت آنذاك على الأنزيمات التي لها علاقة بأيض الكاربوهيدرات.

لوحظ من خلال هذه الدراسات وجود شذوذ غير منتظم في تفاعلات أنزيمات التحليل المائي المتعلقة بالفوسفاتيز الحامضي حيث سجلت زيادة عالية في النشاط الأنزيمي عند استخدام مستخلصات خلوية مذابة في الماء مقارنة بنشاط منخفض في المستخلصات المذابة في محلول سكري متوازن. كما سجل ارتفاع في النشاط الأنزيمي عند استخدام مستخلصات سبق حفظها لفترة زمنية مقارنة مع نشاط منخفض في المستخلصات الخلوية الحديثة التحضير. لقد كانت جميع حالات الشذوذ الكيميائي هذه ترتبط مع رواسب لأجسام صغيرة جداً.

أدت هذه الملاحظات إلى افتراض وجود أجسام خلوية في الخلايا لها دور في عمليات أيض البروتينات والكاربوهيدرات وهي المسؤولة عن الشذوذ الذي تم ملاحظته في الدراسات الكيميائية السابقة. وقبل رؤية هذه الأجسام تحت المجهر فإن العلماء طوروا طرقاً كيميائية خاصة للاستدلال

على وجودها. وتعتبر طريقة جومري Gomori التـي تسـتخدم للكشـف عن وجـود إنـزيم الفوسـفاتيز الحامضــي عـن طريـق أمـلاح الرصـاص إحـدى التقنيات الهستوكيميائية الرائدة في هذا المجال.

وكنتيجة لذلك فقد تم تفسير الشذوذ في التفاعلات الإنزيمية عند استخدام مستخلصـات خلويـة إلـى أن ذلك يعود إلـى تـدمير أكيـاس إنزيميـة وانتشـار الانزيمـات الهاضـمة بتركيز عـالي مقارنـة مع التركيز المنخفض لهـا فـي المستخلصات الحديثة أو المذابة في محلول سكر متوازن.

بعد ذلك بـأعوام اكتشـف كريستيان دي دوف اللايسوسـومات ووضـعها على أنها حويصلات غشائية محملـة بالأنزيمـات الهاضـمة يتـراوح قطرهـا ما بين 0.01 – 0.5 مايكروميتر. لقد وجد بأن هذه العضيات موجودة فـي جميـع أنـواع الخلايـا الحيوانيـة باسـتثناء خلايـا الـدم الحمـراء. كمـا شـخص وجـود أكثـر مـن 60 نوعـاً مـن الأنزيمـات فـي هـذه الحويصـلات وهـو مـا يعكس الأهمية الوظيفية البالغة لهذه الحويصلات وأشـهر هـذه الأنزيمـات : Nucleases , Phosphatase , Sulfatase , Glycosidase , Proteases , Phospholipases , Lipases .

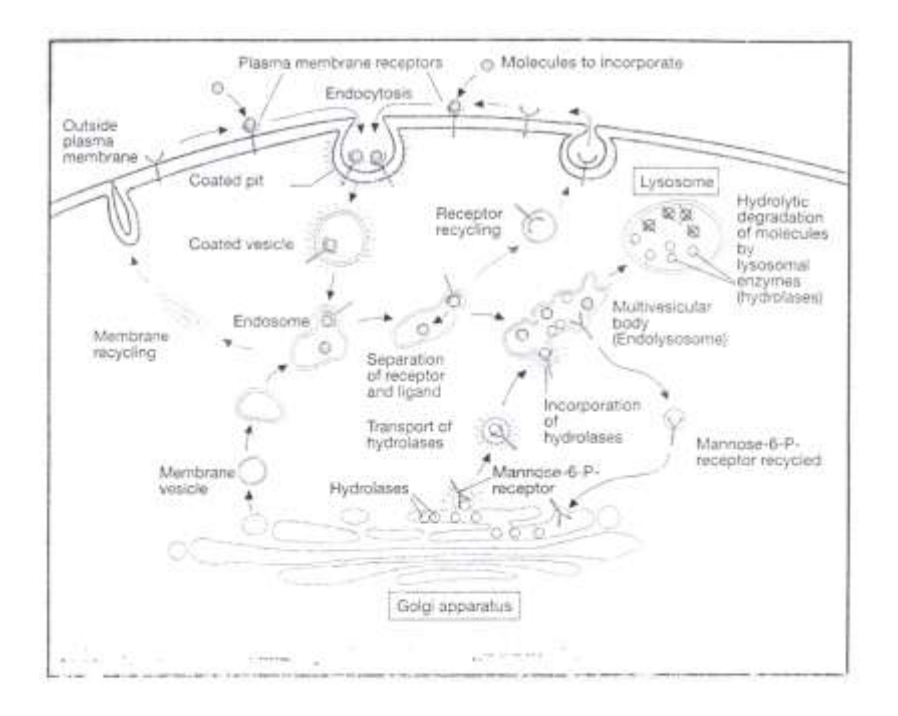
تنشأ اللايسوسومات من صفائح أجسام جولجي التي تتولـى عمليـة ربـط الأنزيمـات الهاضـمة بالسكر Manose - 6 - Phospiata وثـم ادخالـه إلـى اللايسوسـومات التـي لا تلبـث أن تنفصـل علـى هيئـة حويصـلات صـغيرة الحجم تدعى بالأجسام الحالة الأولية Primary Lysosomes تتجمع بـالقرب من جهاز جولجي ولا تلبث أنزيماتها أن تصبح فعالة وقادرة علـى الالتحـام مـع الفجـوات الغذائيـة وتسـمى بعد التحامهـا مـع الفجـوات بـالأجسـام الحالـة الثانوية Secodary Lysosomes.

ونتيجة لاختلاف حجم الأجسام الحالة الثانوية فقد سميت بأسماء أخرى, فمـثلاً عنـد التحـام لايسوسـوم مـع فجـوة غذائيـة ناتجـة عـن التهـام خـارجي Phagocytosis لجسم غريب مثل البكتيريا فإن الفجوة المتحدة تدعى عندئذٍ باللايسوسـوم المتبـاين Heterolysosome أمـا عنـد التحـام لايسوسـوم مـع فجوة غذائية ناتجة عن التهـام ذاتـي Autophagy مثل التهـام مايتوكونـدريا تالفـة أو غيرهـا مـن العضـيات التالفـة فإنـه يـدعى باللايسوسـوم الـذاتي Autophagosome.

كما تسمى اللايسوسومات التي تحتـوي بداخلها علـى حويصـلات دقيقـة بالأجسام متعددة الحويصلات Multivesicular. وبعد أن يتم هضم وتحليل

موجـودات الفجـوات تتسـرب المـواد المفيـدة إلـى داخـل الخلايـا وتـنكمش الحويصـلات علـى فضـلاتها وتسـمى هـذه الأجسـام المتبقيـة Residual Bodies ويتم التخلص من الفضلات بطرق مختلفة بعد ذلك (شكل 5-3).

تحاط اللايسوسومات بغشاء مفرد يبلغ سمكه حوالي 7 نانوميتر ويشتق على الأغلب من أغشية جهاز جولجي. ونظراً لأن الأجسام الحالة يمكن أن تلتحم مع الفجوات التي تنشأ كحويصلات من الغشاء البلازمي لذلك فإن أغشية الأجسام الحالة الثانوية تبدي إضافة لمظاهر أغشية جولجي بعض مظاهر وصفات الأغشية البلازمية. يمتلك غشاء اللايسوسوم مواصفات فريدة تساعد كثيراً في أداء مهمة هذه العضيات. فالغشاء يحتوي على نشاط متميز ومنظم لتحليل جزيئات الطاقة ATP لتزويد محلول الأنزيمات بأس هيدروجيني مناسب لعملها وهو 5.0 PH عن طريق إطلاق أيونات الهيدروجين الموجبة. إذ تعمل جميع أنزيمات التحليل المخزونة في اللايسوسومات عند أسس هيدروجيني قدره 5 كما يمتلك الغشاء مواقع تسمح للايسوسوم بالالتحام مع الفجوات الغذائية المختلفة.



شكل 5-3: طريقة إنتاج الأجسام الحالة من معقد جولجي وكذلك آلية التحام هذه الأجسام مع الفجوات الغذائية وغيرها لأجل الهضم الخلوي.

للأجسام الحالة العديد من الوظائف منها اتلاف العضيات الهرمة داخل الخلايا وتحليل الجسم الأصفر Corpus Iuteum في المبايض والمساهمة في الإخصاب عبر وجود الأكروسوم Acrosome في رؤوس الحيوانات المنوية وتحليل كالسيوم العظام واطلاقه في الدم عبر وجودها الغزير في خلايا كاسرات العظم Osteoclasts والتخلص من الخلايا الهرمة عبر الموت المبرمج للخلايا Apoptosis وإعادة تدوير حبيبات الحليب في الخلايا المفرزة للحليب في الأثدية حتى استلام الإشارات الهرمونية لإيقاف إفراز الحليب والمساهمة في إنتاج المفرزات الثايرويدية والأنسولين, تقترن العديد من الأمراض الوراثية بخلل في وظائف اللايسوسومات. إن غياب وجود لايسوسوم يحتوي على أنزيم تحليل معين يؤدي إلى إيقاف تمثيل مركبات معينة يعتمد نوعها على الأنزيم المفقود ويمكن أن تتضمن المركبات المتراكمة مواداً مثل الجلوكوز أمين جلايكون Glucosominoglycans (سكريات متعددة مخاطية) وجلايكوبروتينات وجلايكونات ودهونات جلايكونية. يؤدي تراكم هذه المواد إلى التداخل مع الفعاليات الأيضية الطبيعية الأخرى التي تجري في الخلايا مما يؤدي إلى ظهور علامات مرضية مميزة.

جاءت معظم معلوماتنا حول الأمراض التي تقترن باللايسوسومات ونقص أنزيماتها الهضمية من الأبحاث العلمية التي أجريت حول عدد من الأمراض التي تسمى جميعها Mucopolysaccharidosis أو أمراض تخزين السكريات المتعددة المخاطية Mucopolysaccharide Storage Diseases تشترك العديد من الأنزيمات اللايسوسومية في تحليل مركب السكريات المتعددة المخاطية والذي يكون غالباً على هيئة سلفات الهيبارين Heparan Sulfata مثل الأنزيمات:

Iduronate Sulfatase , Heparan N-Sulfatase , α-L-iduronidase

β-Glucuronidase , Acyle-coA-acetyl Transferase, وغيرها (شكل 5-4).

شـكل (5-4): اسـتخدام ثمانيـة أنـواع مـن الأنزيمـات اللايسوسـومية لأجل تحليل مركب الهيبارين الكبريتي Heparan Sulfate.

تشـترك ثمانيـة أنزيمـات لايسوسـومية فـي عمليـة تحليـل السـكريات المتعددة المخاطية تتم الخطة الأولى من التحليل بإزالة مجموعة الكبريتات

من نهايات السكر المخاطي بواسطة الأنزيم Indronate Sulfatase المشفر من مورث يقع على الذراع الطويل لكروموسوم X (qX). إن حدوث طفرة وراثية في المورث المشفر لهذا الأنزيم يؤدي إلى غياب فعالية الأنزيم أو توقف إنتاج الأنزيم كلياً مما يوقف عملية تحليل هذا المركب كلياً مؤدياً إلى ظهور مرض هنتر MPS Storage Dioease Type Hunter Disease . أما في الخطوة الثانية من التحليل فيتم شطر المركب الناتج من التفاعل الأول بواسطة الأنزيم α-L-iduronidase والذي يقع مورثه المشفر على الذراع القصير لكروموسوم 4(P4). وجد بأن نوعين من الأمراض يمكن أن تنشأ عن فقدان هذا الأنزيم وهما مرض هورلر Storage Disease Typre (Hurler/Scheie) Hurler’s Disease MSP ومرض الخلية I-Cell Disease I.

تتميز خلايا المصابين بمرض هورلر بوجود فجوات كبيرة معبئة بالسكريات المتعددة المخاطية غير المتأيضة وتؤدي هذه إلى تشوه في نمو العظام والعضلات. لوحظ من خلال زراعة خلايا جلدية أو عضلية مصابة بمرض هورلر مع خلايا طبيعية في مزرعة نسيجية واحدة باستعادة الخلايا المريضة لطبيعتها واختفاء الفجوات الكبيرة مع محتوياتها. وعند استخلاص الوسط الغذائي لهذه المزرعة المختلطة تم التعرف على وجود أنزيم الأيدرونيديز α- L- Iduronidase الذي يمثل الأنزيم المفقود في الخلايا المريضة. ويبدو من ذلك بأن الخلايا الطبيعية تقوم بإفراز هذا الأنزيم إلى الوسط الغذائي حيث تقوم الخلايا المريضة بالتهامه من الوسط الغذائي واستخدامه للتخلص من المواد المتراكمة في فجواتها.

لقد وجد بأن فقدان هذا الأنزيم في خلايا المصابين بمرض هورلر ناتج عن وجود طفرة وراثية متنحية في المورث المشفر لهذا الأنزيم والذي يقع على كروموسوم 4.

أما في مرضى خلية 1 فإن خلايا المصابين تتمكن من تكوين هذا الأنزيم ولكنها لا تتمكن من ادخاله في اللايسوسوم وكذلك لا تتمكن الخلايا المصابة من الاستفادة من الأنزيم مباشرة دون لايسوسوم. بينما تتمكن الخلايا المصابة من الاستفادة من الأنزيم المستخلص من خلايا طبيعية. لقد وجد من خلال مقارنة تحليل تركيب الأنزيم α - L - Iduronidase

المستخلص من خلايا طبيعية مع آخر مستخلص من خلايا مصابة بمرض الخلية I بأن الأخير يفتقد وجود نوع نادر من السكريات القليلة والذي يدعى Mannose - 6 - Phosphate والذي يمثل موقع ارتباط هذا الأنزيم مع مستقبلاته الغشائية. لذلك فإن الأنزيم لا يمكن الاحتفاظ به داخل الخلايا ولايمكن استقباله على سطحها.

ينشأ فقدان أنزيم α-L-Iduronidase أو تشوهه وعدم قدرته على الارتباط مع سكر المانوزر الفوسفاتي عن وجود طفرات وراثية في موقعين من مواقع المورث المشفر له. تؤدي الطفرة الأولى إلى فقدانه وعدم إنتاجه وهو ما يؤدي إلى مرض هورلر بينما تؤدي الطفرة الثانية إلى تشوه مواقع الارتباط مع سكر المانوزر الفوسفاتي وهو ما يؤدي إلى مرض الخلية I.

أما في المراحل الأخرى (الثالثة فما فوق) من عملية تحليل السكريات المتعددة المخاطية فإنه يتم تحطيم هذه السكريات إلى سكريات بسيطة. إن غياب أي أنزيم من الأنزيمات اللايسوسومية في هذه المراحل يؤدي إلى نوع من أنواع هذه المجموعة من الأمراض ويمكن ملاحظة هذه الأنواع وأسبابها في الجدول (5-2).

جدول 5-2: بعض الأمراض المرتبطة باللايسوسومات والأسباب الأنزيمية التي ترتبط معها

نوع المرض	أسباب المرض
IH (Hurler)	نقص في الأنزيم α-L-iduronidase
Is (Scheie)	نقص في الأنزيم α-L-iduronidase
II (Huunter)	نقص في الأنزيم Iduronate Sulfatase
III (Sanfilippo)	
A	نقص في الأنزيم Heparan N-Sulfatase
B	نقص في الأنزيم α-N-zcetylucosaminidase
C	Acety1- CoA: α-glucos-aminide N-acety1 transferase نقص في الأنزيم
D	نقص في الأنزيم N-acetylglucosamine-6-Sulfate Sulfatase
IV (Moroquio)	
A	نقص في الأنزيم Galactose-6-Sulfatase
B	نقص في الأنزيم β-galactosidase

VI (Maroteaux-Lamy)	نقص في الأنزيم N-acetylgalaetosamine-4-sulfatase (ary1-sulfatase B)
VII (Sly)	نقص في الأنزيم b-glucuronidase

نقص مضاد التربسين ألفا (1) α1-antitrypsin (α1-AT) deficiency

يمثل مضـاد التربسين ألفـا (1) بروتينـا مثبطـاً لمجموعـة مـن أنزيمـات المجـرى الـدموي مثـل التربسـين والأليـاسـتين والكيموتريسـي والثـرومبين والبروتييز البكتيري. يعمل بروتين المضاد على غلق المواقع الفعالـة لهذه الأنزيمات عبر الإرتباط بها مما يؤدي إلى توقف نشاط هذه الأنزيمات.

يعمل مضاد التربسين ألفا (1) على منع وتثبيط أنزيم الأستيز Elastase الـذي تفـرزه الخلايـا الدمويـة البيضــاء وخصوصــاً فـي منطقـة القصـبات والقصيبات الهوائية والحويصلات الهوائيـة ويـؤدي هـذا المنـع إلـى الحفـاظ علـى الحويصلات الهوائية والقصـيبات مـن الـتحطم وذلـك لأنـهـا تتـألف مـن نسبة عالية من بروتين المطاطين Elastine.

يـؤدي النقص فـي هـذا المضـاد أو عـدم إنتاجـه إلـى تـدمير الحويصـلات الهوائيـة وانغـلاق المجـاري الهوائيــة وانكمـاش الـرئتين وكـذلك الإصــابة بتشمع الكبد المبكر والربو ويـزداد نقص هـذا المضـاد عنـد المـدخنين أكثـر من غيرهم.

يتـألف بـروتين مضـاد التربسـين ألفـا (1) وهـو بـروتين جلايكـونـي مـن 394 حامضــاً أمينيــاً وحــوالي 12% كاربوهيـدرات. يبلـغ طـول المـورث المشفر لهذا المضاد حوالي 10.2 كيلو قاعدة ويحتوي على خمسـة محـاور تقع جميعها على الكروموسوم 14(14q-32.1).

يحتوي بروتين المضاد على ثلاثة سلاسل جانبية من السكريات القليلـة ترتبط في المواقع المضاد على ثلاثـة سلاسل جانيـة من السكريات القليلـة تـرتبط فـي المواقـع 46, 83, 247 بينمـا يقـع الموقـع الفعـال عنـد المواقـع 358 / 359 (ميثونين / سيرين).

تـؤدي الطفـرات الوراثيـة التــي تحصـل فـي مواقـع عديـدة مـن محـاور المورث المشفر لهذا البروتين إما توقف إنتاجه كلياً أو انخفاض مستواه في الدم. ولقد وجد بأن الطفرات الوراثية التي لها مدلول طبي فـي مـورث هـذا المضاد تقـع فـي الشـفرة الوراثيـة 312 (Piz) و 256 (Pip) و 264 (Pis) و 342 (Piz) و 357 (Pi) (Pi = تعنـــي بطرســـبرج Pittsburg) تعمـــل

الطفرات الوراثية من النوع (Z) وهي الأكثر تكراراً عند المصابين إلى تجمع بروتين المضاد في خلايا الكبد دون أن تتمكن من إفرازه بسبب عدم قدرة احتواء البروتين الطافر في أجسام جولجي لغرض ربط سلاسل السكريات القليلة اللازمة لفعاليته (جدول 3-5).

أما الطفرات الوراثية من نوع (S) فتؤدي إلى تحطم بروتين المضاد حال تكوينه من الريبوسوم بسبب عدم استقرار سلاسل عديد الببتيد المؤلفة له. ويذكر بأن جميع أنواع الطفرات الوراثية التي تحصل في مورث مضاد التربسين تكون طفرات جسمية متنحية.

جدول 5-3: الطفرات الوراثية ذات المدلول الطبي التي تحصل في مورث مضاد التربسين ألفا (1).

نوع الطفرة الوراثية	اسم الطفرة الوراثي
GCG (الينين) ← GTG (فالين)	Pi (Z), Pi (MI)
GTT (فالين) ← GAT (اسبرين)	Pi (P)
AAG (لايسين) ← GAG (جلوتامين)	Pi (Z)
ACG (أرجنين) ← ATG (ميثونين)	Pi Pittsburgh

الأمراض البيروكسيمية Peroxisomal Diseases :

هي مجموعة من الأمراض ذات نمط توارث جسمي متنحي ترتبط مع عيوب وراثية في مورثات الأنزيمات العاملة في البيروكسيمات والتي غالباً ما تنشأ عن طفرات وراثية تؤدي إلى بناء أنزيمات غير نشيطة وغير قادرة على العمل أو توقف إنتاج مثل هذه الأنزيمات. وهو ما يؤدي إلى توقف عمليات الأكسدة في مراحل مختلفة أو عمليات البناء التي تجري داخل هذه العضيات السايتوبلازمية وتراكم مواد الأيض الثانوية مؤدية إلى ظهور الأمراض. تؤدي مثل هذه العيوب الوراثية إلى أمراض عديدة ترتبط جميعها بالبيروكسيمات إلا أن أكثرها تكراراً ومعرفة هي تسعة أمراض يمكن الرجوع إليها في الجدول (5-4).

البيروكسيمات أو الأجسام الدقيقة Peroxisomes or Microbodies تراكيب غشائية دائرية أو بيضوية يتراوح قطرها بين 0.15 – 0.6 مايكروميتر تشابه إلى حد كبير الأجسام الحالة Lysosomes.

تشتق هذه العضيات من الشبكة الأندوبلازمية الملساء ويتم تعبئتها بالأنزيمات المؤكسدة وغيرها قبل انفصالها.

يختلف عدد وحجم البيروكسيمات من نوع خلايا إلى أخرى فهي كثيرة العدد كبيرة الحجم في خلايا الكلى والكبد لعلاقتها الكبيرة مع وظيفة هذين العضوين. وقد تلعب الظروف الغذائية دوراً في زيادة أو نقصان عدد البيروكسيمات في الخلايا.

تتميز أغشية هذه العضيات بقابليتها على نفوذ جزيئات كبيرة الحجم وأكبر من السكروز بالمرور خلالها بسهولة. كما يحتوي وسط هذه العضيات على أنابيب دقيقة Microtubules مرتبة بصورة منتظمة وتراكيب بلورية متميزة وحشوة Matrix سائلة محببة غنية بأنزيمات الأكسدة.

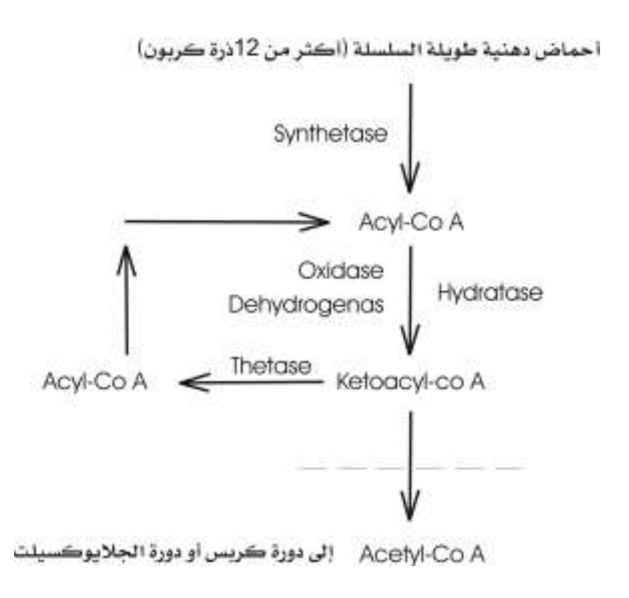
تمتلك البيروكسيمات مجموعة كبيرة من أنزيمات الأكسدة والتمثيل منها Synthetase , D-Amino Aid Oxidase , Catalase , Urate Oxidase , Thiolase , Dehydrogenase , Hydratase ويمثل أنزيم الكاتيليز حوالي 40% من أنزيمات الأكسدة .

تقوم البيروكسيمات باستخدام الأوكسجين الجزيئي O2 لإزالة الهيدروجين من بعض نواتج تحلل المركبات داخل الخلايا مثل الأحماض الأمينية D , L والأحماض الهيدروكسية Hydroxy Acids والبيورينات Purines واليوريا Urates والأوكزالات Oxalate Polyamines والدهو ومشتقاتها وذلك لإنتاج بيروكسيد الهيدروجين كخطوة أولى (H2O2). يستخدم بيروكسيد الهيدروجين بعد ذلك في أكسدة أنواع مختلفة من المركبات من ضمنها الفينول وحامض الفورميك والفورمالدهايد وإنتاج الماء ومركبات مثل الكحولات والنترات وغيرها. ويعتبر أنزيم الكاتليز محور هذه التفاعلات (شكل 5-5).

جدول 5-4: أهم الأمراض المرتبطة بالبيروكسيمات والتي يتم توارثها على النمط الجسمي المتنحي.

الأمراض
Cerebro-hepato-renal syndrome-Type Zellweger
Neonatal Adrenoleukodystrophy
Infantile Refsum Disease
Hyperpipecolic Acidemia

Rhizomelic Chondrodysplasia Punctata
Primary Hyperoxaluria Type I and Others



شكل 5-5: تفاعلات الأكسدة بيتا التي تقوم بها أنزيمات الأكسدة البيروكسيمية.

$$RH_2 + O_2 \longrightarrow R + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + RH_2 \longrightarrow R + 2H_2O$$

إضافة لما سبق فإن للبيروكسيمات دوراً في تحليل الأحماض الدهنية طويلة السلاسل (تحتوي على أكثر من 12 ذرة كاربون) في تفاعل يدعى بتفاعل الأكسدة بيتا β-Oxidation والذي تشترك فيه أربعة من أنزيمات الأكسدة البيروكسيمية لإنتاج جزيئات استيل كو أنزيم Acetyl - CoA A والذي يتم أكسدتها فيما بعد لتحويلها إلى حامض السكسنيك الذي ينتقل إلى دورة كربس التنفسية.

لا تقتصر العمليات الكيميائية التي تدخل فيها أنزيمات الأكسدة البيروكسيمية على عمليات الهدم السابقة بل أن بعض هذه الأنزيمات ذات أهمية كبيرة في بناء Anabolic عدداً من المركبات المهمة واللازمة لعمليات أيضية أخرى مثل إنتاج أو بناء جزيئات الدهون المفسفرة

المعروفـة البلازمـوجين Plasmalogens الضـرورية لتحليـل حـامض الفايتنيك Phytanic Acid وحـامض البايبكولك Pipecolic Acid. وكذلك إنتاج الكوليسترول وأحماض الصفراء والجلوكوز (من تحول الدهون عبر دورة الجلايوكسليت) وغير ذلك. تنشأ جميع الأمراض الوراثية المرتبطة مع البيروكسيمات من توقف عمل أنزيم أو أكثر من أنزيمات الأكسدة ويؤدي ذلك إما إلى تراكم ناتج ثانوي سام أو إلى عدم إنتاج مركبات ذات وظيفة أيضية تالية. فمثلاً ينشأ مرض Neontal Adrenoleukodystrophy من نقص في إنتاج مركب البلازموجين مما يؤدي إلى تراكم أحماض الفايتنيك والبايبكولك وهي مركبات سامة تؤدي في حالة تراكمها إلى الضمور.

أما التناذر الدماغي – الكبدي – الكلوي Cerebro-Hepato-Renal-Syndrome والذي يتميز المصابون به بضعف شديد في العضلات وتكلس مناطق التمفصل العظمي وأكياس كلوية وعتامة في قرنية العين ويؤدي إلى الموت خلال سنة من الميلاد (Type Zellweger) فإنه ينشأ من نقص أو توقف إنتاج أنزيم Vrate Oxidase اللازم لتحليل مركبات اليوريا والتخلص منها. ويذكر بأن مركبات اليوريا من المركبات السامة جداً للجهاز العصبي والكبد والكلى وتؤدي إلى أضرار كبيرة فيهما.

التليف الكيسي **Cystic Fibrosis** (**Mucoviscidosis**)

ينشأ هذا المرض من عطب في قنوات تنظيم أيونات الكلوريد ويؤدي ذلك إلى زيادة كبيرة في إفراز المواد المخاطية في القصبات الهوائية مما يسهل الإصابة بالأمراض التنفسية. كما يؤثر ذلك على المعدة والأمعاء وتنخفض كفاءة البنكرياس عند المرضى إلى حوالي 85%.

يؤدي هذا المرض إلى عقم ذكوري بسبب اختفاء القناة الناقلة للمني Vas Deferens وكذلك عقم عند الإناث (غالباً) – يتراوح معدل العمر عند المصابين بين 20 و 30 سنة.

يعتبر مرض التليف الكيسي من الأمراض الناشئة عن صفة جسمية متنحية ويبدو تأثير الطفرة الوراثية النقية Homozugous كبيراً على الأفراد مقارنة بتأثير وجود طفرة في اليل واحد Heterozygous.

يقع المورث المسؤول عن هذا المرض على الذراع الطويل لكروموسوم 7

(7q31) ويبلغ حجمه أكثر من 230 كيلو قاعدة ويتألف من 24 محوراً تشفر لبروتين غشائي يتألف من 1480 حامضاً أمينياً. يمثل هذا البروتين منظماً غشائياً لقنوات أيونات الكلوريد. يحتوي هذا البروتين على موقعين غشائين وتعمل هذه المواقع على تأسيس نظام فسفرة لتنظيم قنوات أيونات الكلوريد الموجود على السطح العلوي للخلايا الطلائية.

أثبت التحليل الوراثي الذي أجري على DNA المرضى بأن هناك حذف في شفرة وراثية واحدة (الشفرة رقم 508) في المحور العاشر عند 70% من المرضى وهو ما يؤدي إلى اختفاء الحامض الأميني فنيل النين(F) ويرمز بمثل هذه الحالة بـ ΔF508, كما سجلت طفرات وراثية أخرى عند 15% من المرضى تؤدي إلى حدوث حالات خفيفة أو متوسطة من المرض.

تبقع شبكية العين وعمى الألوان

Retinitis Pigmentosa & Colour Blindness

تمثل هذه الأمراض أشهر الأمراض البصرية التي ترجع إلى عوامل وراثية بعضها مندلي والآخر نتيجة لعيوب وراثية أخرى.

يتميز المصابون بمرض تبقع الشبكية بوجود بقع ملونة وأخرى عديمة اللون أو باهتة موزعة بصورة غير منتظمة في شبكية العين.

كما أن القرص البصري Papilla يبدو شمعي مصفر المظهر. يفقد البصر وخصوصاً البصر الليلي نتيجة لفقدان الشبكية لقدرتها على الاستجابة للضوء ويعتمد تلف الشبكية وسرعته اعتماداً على سبب المرض.

أما في عمى الألوان فإن المصابين لا يتمكنون من تمييز الألوان وخصوصاً الأحمر والأخضر نتيجة لعطب أو فقدان كامل لمستقبلات هذه الألوان. في كلا حالتي المرض فإن أسبابهما ترجع إلى طفرات وراثية جسمية أو جنسية سائد أو متنحية والبعض الآخر يعزي لوجود حذف كامل لمورثات المستقبلات.

ولأجل الإحاطة التامة بالأسباب الوراثية لهذه الأمراض فإننا سنوجز آلية عمل مستقبلات الضوء والألوان في العين البشرية. تحتوي شبكية العين البشرية على حوالي 110 مليون من العصي Rod Cells

المتخصصـة في الرؤيـة الليلية وحوالي 6 مليون من المخاريط Cone Cells متخصصة في تمييز الألوان. تمتلك كل خلية عصى (كمثال عن الخلايا الأخرى) على جزء خارجي يعمل كمستقبل للضوء وجزء داخلي يحتوي على النواة والسايتوبلازم والعضيات السايتوبلازمية ويرتبط في نهايته مع تشابك عصبي Synapsis (شكل 5-6). يتألف الجزء الخارجي المستقبل للضوء من أكداس من الأجسام الصفائحية أو الأقراص يبلغ عددها حوالي 1000 صفيحة مرتبة واحدة فوق الأخرى وهي أسمك في العصي منها في المخاريط.

تنتشر كل صفيحة من هذه الصفائح بروتينات ضوئية تدعى الرودبسين Rhodopsin. تختلف كثافة الرودبسين في هذه الصفائح بحيث توفر كثافات إلكترونية متدرجة تساهم في تحويل الفوتونات الضوئية إلى نبضة عصبية.

تنتفخ كل صفيحة في نهايتها ولقد وجد بأن هذه الانتفاخات غنية ببروتين ضوئي آخر يدعى البرفرين Periphrin.

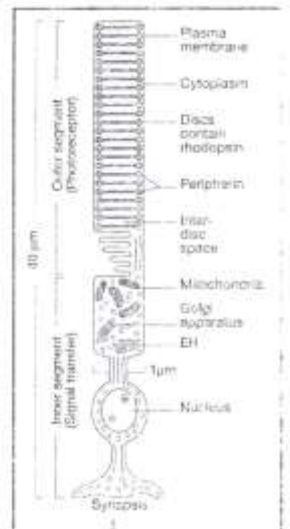
بينت دراسات المجهر الإلكتروني على خلايا العصي والمخاريط بأن جزيئات الرودبسين تنطمر حتى ثلثها في الصفائح في حالة الظلام بينما تنطمر حتى النصف في حالة الإضاءة. وقد تبين فيما بعد أن الرودبسين مؤلف من بروتين الريتنال Retinal الذي يوجد في حالة استرخاء (11-Trans-Retinal) في الظلام وحالة انكماش Cis (11-Cis-Retinal) في الضوء وهو ما يفسر الفحوصات المجهرية السابقة (شكل 5-7).

يتألف الرودبسين من جزء خارجي حساس للضوء يدعى كروموفور Chromophore يحتوي على حامض اللايسين في الموقع 296 من سلسلة عديد الببتيد وجزء ماص للفوتونات الضوئية مؤلف من الرتينال Cis. إضافة لموقع تآصري مع جزيئات بروتين الترانسديوسين Transducin والرودبسين كاينيز Rhodipsin Kinase والأرستين Arrestin.

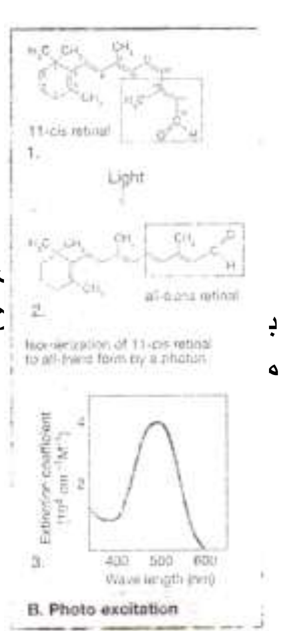
يؤدي تنشيط الروديسيون بالضوء إلى قدح سلسلة من التفاعلات الأنزيمية التي تحول طاقة الفوتونات الضوئية إلى نبضة عصبية وتدعى هذه التفاعلات بمجملها بالمساقط الضوئية أو الشلال الضوئي Light Cascade (شكل 5-8).

يبدأ الشلال الضوئي بتثبيط الرودبسين الذي يتحول إلى حالة الانكماش Cis (110-Cis-Ritinal) والذي بدوره ينشط بروتين الترانسديوسين الذي يعمل حال تنشيطه على تحليل جزيئات ADP أدونسين ثنائي الفوسفات إلى جوانسين أحادي الفوسفات الحلقي CAMP الذي يمثل مراسل ثانوي وإشارة لتنشيط أنزيم الفوسفوداي استريز الذي يعمل على تخفيض تركيز المركب الحلقي cGMP (جوانسين أحادي الفوسفات الحلقي) عبر تحليله مائياً إلى جوانين وفوسفات. يؤدي انخفاض تركيز المركب cGMP إلى غلق منافذ أيونات الصوديوم وهو ما يؤدي إلى قطبية عالية في الغشاء البلازمي للخلايا Hyperpolarization. تنتقل هذه عبر التشابك العصبي على هيئة نبضات عصبية إلى الدماغ. أما في حالة إبصار الألوان فإن المخاريط التي تقوم بهذا العمل تكون غنية بثلاثة بروتينات لونية وهي بروتينات إبصار اللون الأحمر وبروتينات إبصار اللون الأخضر وبروتينات إبصار اللون الأزرق وتوجد هذه البروتينات منفصلة بحيث يوجد نتيجة لذلك ثلاثة أنواع من المخاريط تختص كل نوع منها بلون معين وتعمل هذه فرادى أو ثنائي أو مجتمعة تبعاً للألوان الساقطة على شبكية العين.

يقع المورث المشفر لبروتين الروديسين على الذراع الطويل لكروموسوم 3(3q21.4) والمورث المشفر لبروتين البرفرين على الذراع القصير لكروموسوم 6(6P). بينما تقع مورثات الوحدات ألفا وبيتا الخاصة بالأنزيم فوسفوداي استريز بالقرب من القطعة المركزية لكروموسوم 8 . شخصت أول طفرة وراثية في مورث الرودبسين والمؤدية إلى مرض تبقع الشبكية عام 1990 حيث اكتشف وجود استبدال السايتوسين بالادنين في الشفرة 23 (CCC CAC) يتم نتيجتها استبدال البروتين المهم جداً في التحسس الضوئي بالهستدين (شكل 5-9).

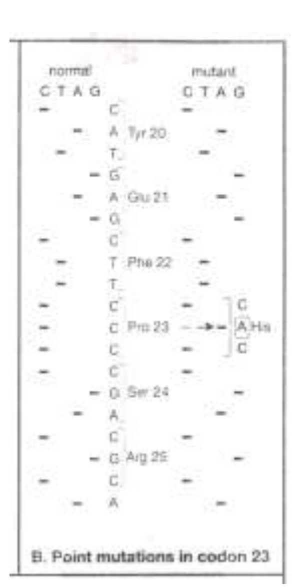


شكل 5-6: مخطط لخلية ضوئية (عصى d البلازمية الموجودة في الجزء العلوي والمسؤول ضوئي) وتضخيمه لانتاج إشارة عصبية يتم نقلها العصبي الذي يقع في قاعدة الخلية.



... الاسترخاء Trans والانكماش Cis لمركب الريتنال
ب... م وكذلك كفاءة التهيج الضوئي عند أطوال موجية
ه...

شكل 5-8: سلسلة التفاعلات الكيميائية لخلايا اله...
للضوء لانتاج إشارة عصبية.



شكل 5-9: الطفرة الوراثية في موقع الشفرة رقم 23 حيث يستبدل السيتوسبين بالادنين مما يؤدي إلى إنتاج الهستدين بدلاً من البروتين عند استنساخ وترجمة مورث الرودبسين الطافر.

وقد شخصت حتى الآن أكثر من 80 طفرة وراثية سائدة في هذا المورث وعدد آخر من الطفرات المتنحية إضافة لحذف تؤدي جميعها إلى مرض تبقع الشبكية. كما سجلت طفرات وراثية أخرى في مورثات البرفرين والترانسديوسين والفوسفوداي استيريز تؤدي جميعها إلى نفس المرض.

أما عمى الألوان فيرجع إلى تراكبات وراثية غير متوازنة ناتجة عن العبور أثناء الانقسامات الاختزالية وقد تؤدي هذه إلى حذف بعض المورثات. تقع المورثات المشفرة لبروتين تحسس اللون الأحمر وبروتين تحسس اللون الأخضر على كروموسومx (مرتبطة بالجنس) فيما يقع المورث المشفر للبروتين المتحسس للون الأزرق على كروموسوم جسمي (رقم 7).

وجد من خلال فحص ترددات هذه المورثات وبروتيناتها بأن هناك تشابه كبير في بعض مواقعها Homology ويؤدي العبور غير الطبيعي في المناطق المتشابهة التردد في مورثي اللون الأحمر والأخضر (على اعتبار وجودهما متجاورين على كروموسوم X) إلى إنتاج تراكبات وراثية غير متوازنة ينشأ منها عمى اللون الأخضر Green Blindness بسبب فقدان مورث بروتينات اللون الأخضر وعمى اللون الأحمر Red Blindness نتيجة فقدان مورثات اللونين الأحمر والأخضر معاً (شكل 5-10).

وتبلغ نسبة إصابة الذكور لعمى الألوان حوالي 1% للونين الأخضر والأحمر و2% للون الأخضر و8% ضعف في تمييز اللون الأحمر من الأخضر وبالعكس.

شكل 5-10: مخطط يوضح ال
تمييز الألوان الحمراء (الشكل الأ
الجـزء (2) فإنـه يمثـل الحـالات
والأمراض البصرية المرافقة لها .

تناذر كروموسوم X الهش: me

يدعى هذا التناذر أيضاً بتناذر ماكسوسك 309550 وتناذر مارتن – بيل وغير ذلك.

يعتبر هذا التناذر الأكثر تكراراً بين الأفراد من جميع أسباب التخلف العقلي الوراثي ويبلغ تكراره عند الذكور حوالي 1: 1500.

ينشأ هذا التناذر عن حصول طفرات وراثية في ترددات CGG للمورث FMR1 الذي يقع في موقع هش على الذراع الطويل لكروموسوم X (Xq_27.3) وخصوصاً في النهاية الخامسة للمورث.

تعتبر ترددات CGG غير مستقرة في هذا الموقع وقد يزداد حجمها في الموقع من جيل إلى آخر (شكل 5-11).

تختلف الأعراض المظهرية لهذا التناذر وكذلك درجة التخلف العقلي وتظهر خصى الذكور المصابة متضخمة Macroorchidsm.

لقد وجد من خلال التحليل الوراثي لهذا التناذر بأن الأمهات الخليطة Heterozygous للموقع FRAXA قادرة على تمرير الطفرات الوراثية في هذا الموقع إلى أولادها وبناتها دون أن يكون للأب دور في ذلك.

ولا تتأثر البنات في التناذر عندما يكون الأب طبيعي حامل للطفرة إلا أن نسبة حصولها على أبناء مصابون بالتناذر يكون عالياً.

وبشكل عام فإن شدة الإصابة يعتمد على حجم الطفرة الوراثية في الموقع حيث تبدو الإناث والذكور بهيئة طبيعية عند وجود طفرة قصيرة لديهما ويصاب الأفراد بالتخلف عند وجود طفرات كبيرة.

هذا إضافة إلى أن هذه الطفرات تزداد بزيادة الأجيال.





(a) (b)

شكل 5-11: كروموسوم X الهش (a) ويلاحظ النهاية شبه المنفصلة منه. كما يلاحظ تضخم الخصى (b) الذي يتميز به معظم المصابين.

مرض السكري **Diabetes Mellitus**

يعتبر هذا المرض من أكثر الأمراض انتشاراً في العالم حيث يصيب حوالي 2% من السكان ويؤدي إلى اختلاطات عديدة متنوعة.

يصنف مرض السكري إلى نوعين هما النوع الأول وهو مرض السكري المعتمد على الأنسولين (IDDM) Insulin - Dependent Diabetes وهو الأكثر شيوعاً بين الناس وينشأ غالباً عن عامل خارجي مثل الإصابة بأنواع مختلفة من الفايروسات أو عوامل نفسية مع وجود استعداد وراثي للإصابة بالسكري.

أما النوع الثاني فهو السكري غير المعتمد على الأنسولين Non-Insulin Dependent Diabetes (NIDDM) ويصيب اليافعين وينشأ عن سبب وراثي وبصفة جسمية بعضها سائدة والأخرى متنحية. تنشأ الإصابة بمرضى السكري المعتمد على الأنسولين بسبب توقف خلايا جزر لانكرهانس في البنكرياس عن تكوين وإفراز الأنسولين وذلك نتيجة لتلف هذه الخلايا بسبب الإصابات المتكررة بأنواع مختلفة من الفايروسات أو غيرها.

ويذكر بأن وجود الأنسولين في الدم يعمل على تسهيل دخول جزيئات الجلوكوز إلى داخل الخلايا حيث أن ارتباط جزيئات الأنسولين مع مستقبلها على سطح الخلايا يؤدي تحويل هذا المستقبل إلى أنزيم يعمل على فسفرة التايروسين في البروتينات الغشائية مما يؤدي إلى فتح مضخات الصوديوم في الأغشية التي تعمل على إدخال جزيئة جلوكوز إلى داخل الخلية مع كل أيون صوديوم يتم إدخاله. لذلك فإن فقدان الأنسولين يؤدي إلى تراكم الجلوكوز في الدم وهو ما يؤدي إلى ارتفاع مستواه عن الطبيعي بينما تعاني الخلايا حالة تجويع نتيجة عدم دخول الجلوكوز إليها.

أما في حالة السكري غير المعتمد على الأنسولين فإن المرض ينشأ إما بسبب وجود الأنسولين ولكنه في حالة تلف وتشوه بسبب وجود طفرات وراثية في مورث الأنسولين أو أن الأنسولين طبيعي وبمستوى طبيعي إلا أن مستقبلات الأنسولين على أغشية الخلايا تكون في حالة تلف أو تشوه ولا تتمكن تبعاً لذلك من التآمر مع جزيئات الأنسولين المتوفرة حولها. وفي مثل هاتين الحالتين فإن مستوى الأنسولين في الدم عند هؤلاء المرضى يكون عند الحدود الطبيعية.

يقع مورث الأنسولين على الذراع القصير لكروموسوم 11 ويشغل هذا المورث حوالي 1430 زوج قاعدي ويحتوي محورين. يتم التعبير عن هذا المورث في خلايا بيتا Beta Ceels الموجودة ضمن جزر لانكرهانس في البنكرياس حيث يتم إنتاج نوعان من سلاسل عديد الببتيد وهي سلسلة ألفا (A) التي تتألف من 21 حامضاً أمينياً وسلسلة بيتا (B) التي تتألف من 30 حامضاً أمينياً. ترتبط هذه السلاسل مع بعضها بأواصر كبريتية لإنتاج الأنسولين الفعال.

إن حصول طفرات وراثية في المحور الأول أو المحور الثاني يؤدي إلى إنتاج سلاسل عديد الببتيد غير طبيعية ترتبط مع بعضها بصورة غير طبيعية مما يؤدي إلى إفراز أنسولين غير طبيعي مشوه غير قادر على الارتباط مع مستقبلاته.

أما في حالة تلف مستقبلات الأنسولين وهو ما يدعى بتناذر مقاومة الأنسولين Insulin Resistance Syndrom فيرجع أيضاً إلى طفرات وراثية في مورثات البروتينات الغشائية. وحتى هذا اليوم فإنه لم يتم تحديد طفرات بعينها مسؤولة عن هذه التشوهات إلا القليل ويختلف العلماء في تصنيفها.

مرض ربرتل والتشوهات العظمية

Brittle Disease and Osteogenesis imperfecta

يمثل مرض برتل والتشوهات العظمية مجموعة متنوعة من الأمراض التي تصيب العظام وتؤدي إلى تشوهات فيها. يعود سبب هذه الأمراض غالباً إلى وجود طفرات وراثية في مورثات الكولاجين الذي يمثل الدعامة الأساسية لقوة العظام. يتراوح تكرار الإصابة بهذه التشوهات حوالي فرد من كل عشرة آلاف.

تؤدي بعض هذه التشوهات إلى موت الأجنة قبل الولادة Perinatal Lethel Ostimp وبعضها يترك تشوهات واضحة في عظام المواليد الجديدة (جدول 5-5) (شكل 5-12).

يعتبر الكولاجين من أكثر البروتينات إنتشاراً في الأنسجة عند اللبائن وهو يمثل حوالي 33% من بروتينات الجسم البشري. إن هناك أكثر من عشرين نوعاً من الكولاجين في جسم الإنسان تنتشر هذه في الجلد والأربطة والغضاريف والعظام والأوعية الدموية والعضلات وغيرها. ويمثل الكولاجين العظمي عامل القوة والإسناد في العظام حيث يترسب قبل تكلس العظام.

يتألف بروتين الكولاجين من سلسلة من الأحماض الأمينية التي تتسلسل بطريقة خاصة حيث يتردد حامض الجلايسين بعد كل حامضين أمينيين في السلسلة وغالباً ما تكون هذه الأحماض برولين أو هايدروكسي برولين ولايسين أو هيدروكسي لايسيتن.

وتكتب صيغة خاصة لهذا البروتين هي (Gly - X - Y)n حيث أن X يمثل حامض البرولين أو هيدروكسي برولين بينما Y يمثل اللايسين أو هايدروكسي لايسين.

يتم تكوين ليف الكولاجين من التفاف ثلاثة سلاسل من الكولاجين على بعضها بهيئة ظفيرة. ففي الكولاجين النوع الأول Collagene I (وهو الكولاجين العظمي) تلتف سلسلتان متطابقتان من نوع ألفا مع سلسلتان متطابقتان من نوع بيتا لإنشاء جزيئة كولاجين أولي ثم يعمل أنزيم بروكولاجين ببتيديز Procollagene Peptidase على إزالة أجزاء من هذه السلاسل من النهايتين N و C لإنتاج التروبوكولاجين Tropocollagene وترتبط جزيئات التروبوكولاجين فيما بعد بينها مستخدمة المواقع العديدة للهيدروكسي برولين واللايسين لإنتاج الألياف الكولاجينية.

يشفر الكولاجين من أكثر من 35 مورث تنتشر على اثنتي عشر كروموسوماً (جدول 5-6). إن معظم هذه المورثات يمتلك العديد من المحاور الصغيرة الحجم وقد وجد بأن حصول حذف في بعض هذه المحاور لا يؤثر كثيراً حيث يؤدي الحذف إلى إنتاج سلاسل عديد الببتيد قصيرة ولكنها نافعة ويكون تأثيرها على العظام متوسطاً أو بسيطاً. إلا أن وجود طفرات وراثية في هذه المحاور وخصوصاً في مواقع الجلايسين يؤدي إلى تشوه كبير في سلاسل عديد الببتيد بحيث لا يمكنها الإلتفاف على بعضها لإنتاج ألياف كولاجينية متينة وبالتالي تنشأ تشوهات عظمية متنوعة تبعاً لتأثير الطفرة الوراثية.

Disease	Inheritance
Ol type I (divided on dental findinge into IA, IB, IC)	AD
Ol type ll	AD Rarely AR
Ol type lll	AD Rarely AR
Ol type IV (divided on dental findings into IVA,lVB)	AD
SED	AD
Stickler syndrome	AD
Kiniest dysplasia	AD
EDS type lV	AD
EDS type Vll	AD
DEB (Dallopeau-Siemens)	AR
Alport syndrome	XL AD? AR

جدول 5-5: بعض أنـواع التشـوهات العظميـة وطريقـة توارثها حيث تدل AD على الارتباط الجسمي السـائد وتـدل AR علـى الارتبـاط الجسـمي المتنحي فيما يمثل XL الارتباط بكروموسوم X.



شكل 5-12: حالة مميتة من التشوهات الولادية العظمية.

المورث	الموقع	التناذر
COL 1A1	17q22	Ol type l O1 type 11 O1 types, 1,111 or 1V EDS type V11
COL 1A2	7q22.1	O1 type 11,1V O1 type 111 EDS type V11
COL 2A1	12q13	SED Stickler syndrome Kniest dyndrome Achondrogensis 11, spondylo-meta-epiphyseal dysplasia
COL 3A1	12q31	EDS type 1V
COL 4A3	2q36	AR A1port syndrome
COL 4A4	2q36	AR A1port syndrome
COL 4A5	Xq22	XL A1port syndrome
COL 5A1	9q34	EDS type 1/11
COL 7A1	3p21.3	Dominant DEB Recessive DEB
COL 10A1	6q21-q22	Schmid metaphyseal chondrodysplasia
2A11COL	6p21.3	Stickler syndrome

جـــدول 5-6: بعـــض مورثـــات الكـــولاجين ومواقعهـــا علـــى الكروموسـومات والتنـاذرات التـي تسـببها فـي حالـة حصـول الطفـرات الوراثية فيها .

فمثلاً إن حصول حذف في محور النهاية N لمورث الكولاجين الأول Col 1A1 أو Col 1A2 يؤدي إلى وجود عظام طبيعية بروابط غير طبيعية وهو ما يسمى بتناذر أيرلس – دونالس Erlers-Donals Syndrome .

بينما تؤدي الطفرات الوراثية في مورث الكولاجين الثاني Col 2A1 إلى تأثيرات واسعة تشمل العديد من التشوهات العظمية مثل تناذر مارشال – ستكر Marshall Sticker Syndrome وغيرها. وعلى العموم فإن حصول الطفرات الوراثية في النهاية الثالثة من مورثات الكولاجين الأول

والثاني يكون مصحوباً بتشوهات عظمية واسعة مقارنة بحالات خفيفة في حالة حصولها في النهاية الخامسة.

ولا تقتصر الأضرار التي تسببها الطفرات الوراثية في مورثات الكولاجين على العظام بل يتعداها إلى حصول أضرار متنوعة في الأنسجة الطلائية والرابطة حيث تؤدي الطفرات الوراثية في مورث الكولاجين الرابع Col 4A1 إلى تفكك الغشاء القاعدي الذي تستند عليه الأنسجة الطلائية وهو ما يؤدي إلى ظهور عدداً من الأمراض الجلدية والتنفسية والكلوية مثل تناذر البورت Alport Syndrome الناتج عن جسيمات كلوية غير طبيعية تؤدي إلى أضرار كلوية حادة وفقدان في السمع بسبب تشوه قوقعة الأذن الداخلية.

ومن المعروف بأن بناء الكولاجين الرابع ينشأ في اتحاد سلاسل عديد ببتيد مشفر من مورث يقع على كروموسوم X وأخرى مشفرة من مورث يقع على كروموسوم 2 ولذلك فإن بعض هذه الطفرات يكون مرتبط بكروموسوم الجنس X والأخرى طفرات جسمية مرتبطة بكروموسوم 2.

الأمراض المرتبطة بتحديد الجنس

Genetical Determination Disorders

يخضع التطور الجنسي لتأثير عدد من المورثات وأن حصول أضرار في هذه المورثات يؤدي إلى فشل كلي أو جزئي في تحديد الجنس.

ولأجل الخوض في تفاصيل نتائج الأضرار الوراثية على تحديد الجنس فإنه لا بد أولاً الحديث عن آليات تحديد الجنس الطبيعية.

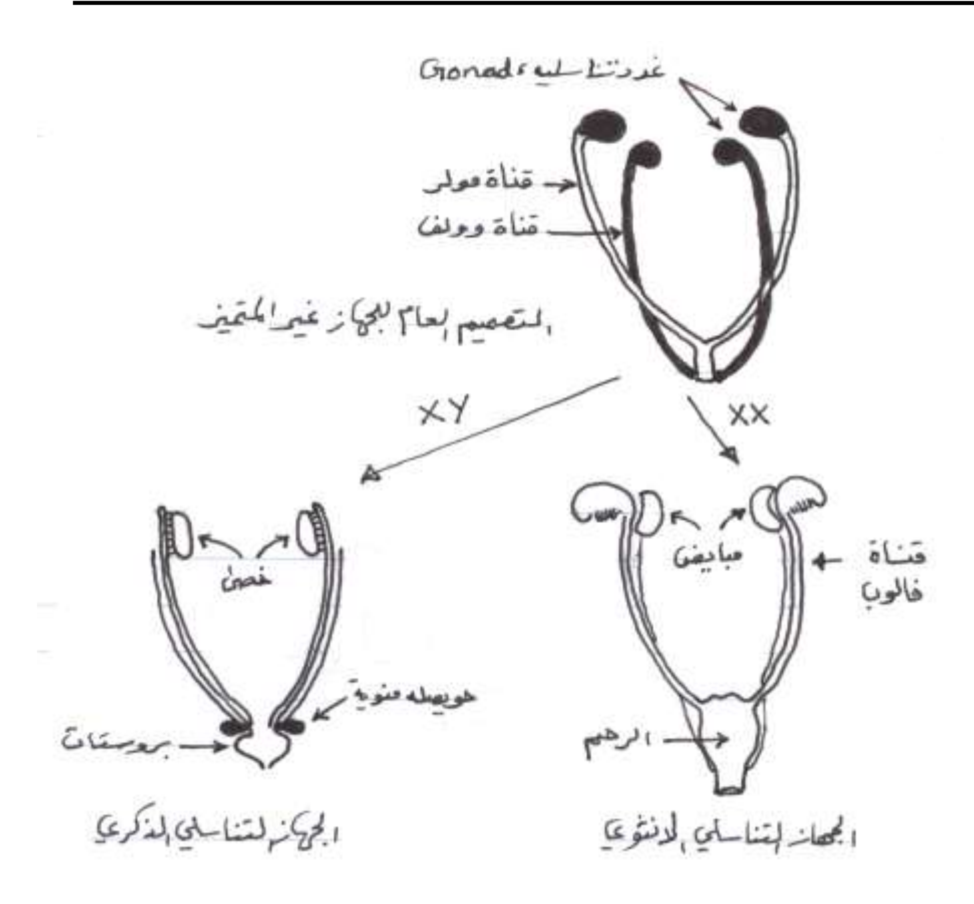
تختلف الخلايا الأنثوية البشرية عن الخلايا الذكرية في احتواءها على زوج من كروموسوم X فيما تحتوي خلايا الذكر على كروموسوم X مفرد وكروموسوم Y. لذلك فإنه عند تكوين الخلايا الجنسية فإن جميع البيوض المتكونة في مبايض الإناث سوف تحتوي على كروموسوم X مفرد بينما يحتوي 50% من الحيوانات المنوية على كروموسوم Y و 50% المتبقية تحتوي على كروموسوم X مفرد.

واستناداً لذلك فإن الذكر ينتج نوعان من الحيوانات المنوية بعضها يحتوي على كروموسوم Y والأخرى تحتوي على كروموسوم X فيما تنتج الإناث نوعاً واحد من البيوض. وعند التقاء الخلايا الجنسية الذكرية بالأنثوية عند الإخصاب يتحدد جنس الجنين وذلك اعتماداً على نوع الحيوان المنوي الذي يقوم بإخصاب البويضة حيث يكون الجنين ذكراً عند

التقاء حيوان منوي Y مع البويضة وأنثى عند التقاء حيوان منوي X مع البويضة. وعلى ذلك فإن جنس الجنين يتحدد لحظة الإخصاب.

يختلف كروموسوم X عن كروموسوم Y كثيراً حيث يكون كروموسوم X طويلاً وكبير الحجم بينما يكون كروموسوم Y صغير الحجم. كما تختلف الكروموسومات عن بعضها في المادة الوراثية حيث لا يلتصقان عند التقاءهما في الدور التمهيدي الأول في الانقسام الاختزالي إلا في نقطة صغيرة تقع في نهاية الكروموسومات تدعى منطقة PAR Pseudoautosomal Region يتم تبادلها بين الكروموسومين عند العبور.

وعلى الرغم من أن تحديد الجنس يحصل لحظة الإخصاب إلا أن عملية نمو وتطور الأنسجة الجنسية تبدأ بعد ذلك بعدة أسابيع. ففي مراحل التشكل الجنيني الأولية في الإنسان تتكون زوج من الغدد الجنسية غير المتميزة Gonads في الأسبوع الرابع ويرافق ظهور الغدد نمو زوجان من القنوات وهما قناة وولف Wolfian Duct وقناة مولر Mullerian Duct حيث أن نمو الأولى وضمور الثانية يحول الجهاز التناسلي الأولي إلى جهاز تناسلي ذكري فيما يؤدي نمو قناة مولر إلى اضمحلال قناة وولف ويتحول عندها الجهاز التناسلي الأولي إلى جهاز تناسلي أنثوي, ويحصل مثل هذا التخصص عادة في الأسبوع السادس والسابع من عمر الجنين (شكل 5-13).



شكل 5-13: التخصص الذي يحصل في الجهاز التناسلي العام بعد الأسبوع السادس ليصبح جهازاً أنثوياً أو ذكرياً اعتماداً على وجود أو عدم وجود كروموسوم Y.

تعتمد عملية تخصص الجهاز التناسلي الأولي (التصميم العام) (تحوله إلى جهاز تناسلي ذكري أو أنثوي) على وجود كروموسوم Y أو عدم وجوده. إذ أن تخصص الجهاز التناسلي الذكري يعتمد كلياً على وجود مورثات SRY و TDF المحمولة على كروموسوم Y فقط. يعمل المورث SRY على تنشيط المورث TDF والذي يقوم بدوره بتكوين العامل المحدد للخصى Test Determing Factor TDF الذي يستقبل حال تكوينه من الخلايا المؤلفة للغدد الجنسية غير المتميزة التي تبدأ عندها بالتحول إلى خصى وثم تقوم عندها بإفراز هرمون التستوستيرون الذي يعمل على إبراز مظاهر الذكورة الأخرى.

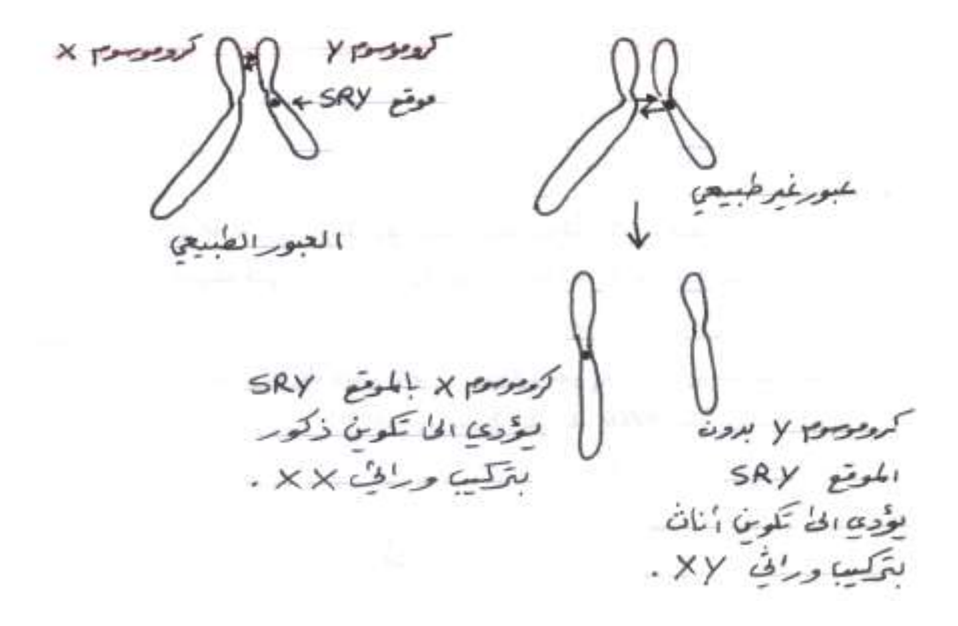
يتم استقبال هرمون التستوستيرون من قبل خلايا قناة وولف والتجاويف الجنسية – البولية وتعمل هذه الخلايا على تحويل هذا الهرمون بواسطة الأنزيم 5α-Reductase إلى الهرمون DHT Dihydroxy Testosterone. يؤدي وجود الهرمونات التستوستيرون و DHT في خلايا قناة وولف والتجاويف إلى تحفيز العديد من المورثات لإنتاج بروتينات منظمة تعمل على تنمية وتحويل قناة وولف إلى قنوات منوية وملحقاتها وكذلك إندثار قناة مولر.

أما عند غياب كروموسوم Y فإن القشرة الخارجية للغدد الجنسية غير المتميزة تتحول إلى مبايض بسبب غياب وجود العامل TDF وعندها يفرز هرمونا البروجستيرون والإستروجين اللذان يعملان على نمو قناة مولر وتحويلها لقناة فالوب والرحم والمهبل بينما تندثر قناة وولف وتبدأ مظاهر الأنوثة الأخرى بالظهور.

وفي حالات عديدة من الأطفال حديثي الولادة يكون تحديد الجنس صعباً نتيجة لتشوهات في الأعضاء التناسلية الخارجية بسبب حصول أضرار وراثية. فمثلاً يقع المورث SRY بالقرب من الموقع PAR على كروموسوم Y وعند حصول العبور فإنه يحصل في حالات نادرة تبادل الموقعين مع كروموسوم X مما يؤدي إلى تكوين جنين ذكري بطراز وراثي أنثوي XX أما الجنين الناتج عن وجود كروموسوم Y الفاقد للمورث SRY فإنه يكون أنثى بطراز وراثي ذكري (XY) (شكل5-14).

ولا تقتصر الاختلالات الوراثية في تحديد الجنس على فقدان المورث SRY بل إن حصول طفرات وراثية في هذا المورث تؤدي إلى تكوين أفراد بهيئة مظهرية أنثوية غير مكتملة بهيئة وراثية ذكرية.

كما وجد حصول شذوذ في تحديد الجنس في حالة وجود طفرات وراثية في مورث جسمي يدعى SOX9 يقع على كروموسوم 17(17q24) له بالمورث الذكوري SRK.



شكل 5-14: مخطط لآلية تبادل موقع SRY أثناء العبور في الدور التمهيدي الأول من الانقسام الاختزالي وما ينتج عن ذلك في حالة العبور غير الطبيعي.

كما أن حصول طفرات وراثية في المورثات المشفرة للمستقبلات الأندوروجينية الموجودة في خلايا قنوات وولف والتجاويف التناسلية – البولية يؤدي إلى إنتاج مستقبلات مشوهة غير قادرة على الارتباط مع هرموني التستوستيرون و DHT مما يؤثر تأثيراً كاملاً أو جزئياً على تحديد الجنس.

إضافة لذلك فقد وجد بأن حصول طفرات وراثية في المورثات المسؤولة عن الأنزيمات اللازمة لتكوين الكورتيزول (مورثات جسمية) وهو هرمون ستيرويدي يفرز من قشرة غدة الأدرينالية وله علاقة في نمو العضلات يؤدي إلى توقف عملية تنظيم أيونات الصوديوم في أسوء الأحوال وهو ما يؤدي إلى فقدان شديد في الأملاح.

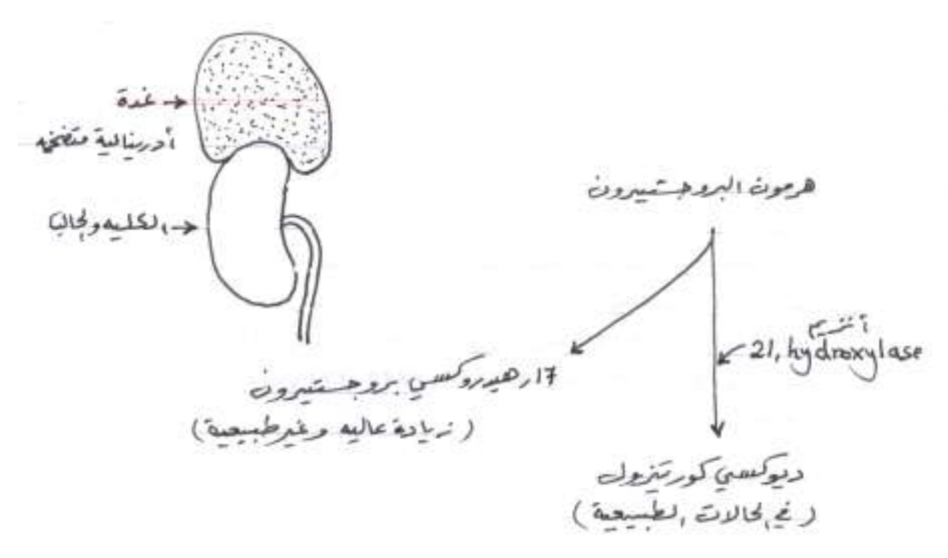
وقد يصاحب هذا الأعراض عند الإناث ظهور عوامل الذكورة ويدعى طبياً Adrenogenital Syndrome (AGS) حيث ينخفض مستوى هرموني الأستروجين اللازمين لبقاء عوامل الأنوثة. أما في حالة إصابة الذكور

من الأولاد فإنه يؤدي إلى نمو هيكلي سريع دون خلل جنسي (شكل 5-15).

وفي حالات غير طبيعية أخرى ونادرة يمكن وجود الأنسجة الجنسية الأنثوية والذكرية عند نفس الفرد أما كأعضاء مستقلة أو عضو واحد (Quotestis) ويدعى هؤلاء بالخناث الحقيقية True Hermaphraditism وغالباً ما تكون الأعضاء الداخلية لهؤلاء مشوهة لحد كبير.

وفي حالات أخرى من الممكن وجود أنسجة جنسية من نوع واحد وكروموسومات جنسية مختلفة وتدعى هذه بالخناث الكاذبة Pseudo Hermaphraditism. وترجع معظم هذه الحالات إلى حصول إنتقالات كروموسومية متنوعة عند الانقسامات المباشرة أو غير المباشرة (الاختزالية).

ولا يقتصر الشذوذ في تحديد الجنس بسبب الكروموسومات على ما سبق بل أن هناك حالات غير طبيعية أخرى مثل تناذر تيرنر الناشئ عن فقدان فرد من كروموسوم X وتناذر كلينفلتر الناشئ عن زيادة في عدد كروموسوم X (XXY) والذي يصيب الذكور وحالات أخرى مثل XXXY و XXXX و XYY و XXYY وغير ذلك.



شكل 5-15: تخطيط يوضح تضخم غدة الأدرينـال بسبب عدم تمثيل البروجستيرون بشكل طبيعي وانتاج زيادة عالية من مركب هيدركسي بروجستيرون وهو ما يؤدي إلى تناذر AGS.

وراثة الحساسية للعقاقير **Pharmacogenetice** :

إن العديد من الأدوية التي نستخدمها لعلاج الأمراض تتحلل داخل أجسامنا فيما بعد بواسطة العديد من الأنزيمات لغرض التخلص منها. ويعتمد معدل سرعة تحلل هذه الأدوية على الأفراد. إذ تختلف سرعة التحلل هذه من فرد إلى آخر. وكان يعتقد سابقاً بأن سبب ذلك يعود إلى الحالة الفسلجية لدى الأفراد دون وجود دور للوراثة في ذلك. إلا أن الأبحاث العلمية التي أجريت حول ذلك بينت بشكل واضح بأن الاختلاف في سرعة تحلل الأدوية أو التحسس لها ينشأ بسبب طفرات وراثية في المورث المشفر لأنزيمات تحليل الدواء. كما وجد بأن شدة الحساسية وخطورتها يرجع إلى مستوى الأضرار الوراثية. كما تبين بأن حالات مقاومة المضادات الحيوية والمبيدات لدى الأحياء الأخرى ترجع لنفس السبب.

ارتفاع الحرارة الخبيث Malignant Hyperthermia :

نوع من الحساسية الشديدة الخطورة لعوامل التخدير وخصوصاً الهالوثان Halothane والعوامل المماثلة المستخدمة في التخدير العام.

تنشأ الحساسية نتيجة تشوه البروتينات الغشائية المؤلفة لمستقبلات الراينودين Ryanodin Receptors نتيجة لطفرات وراثية جسمية سائدة تتبع مواقع وراثية متعددة يقع بعضها على كروموسوم 19 (19q-13.1) وكروموسوم 7 (7q-) وكروموسوم 17 (17q-) وكروموسوم 3 (3q-13.1). إن ارتباط جزيئات المواد المخدرة مع مستقبلات الراينودين الطبيعية يؤدي إلى إيقاف إيصال الإيعازات العصبية عند مناطق التشابكات العصبية والعضلية وهو ما يؤدي إلى حالة استرخاء عضلي تام. أما في حالة ارتباط جزيئات المواد المخدرة مع المستقبلات غير الطبيعية للراينودين فقد وجد بأنه يولد حساسية شديدة تترافق مع تشنجات عضلية وارتفاع درجة الحرارة بشكل كبير وقد يتوقف القلب أيضاً.

في العادة تعمل مستقبلات الراينودين عند ارتباطها مع مركب الراينودين القاعدي الذي يتم إطلاقه عند ارتباط جزيئات الاستيل كولين مع مستقبلاتها في مناطق التشابكات على تنظيم قنوات نقل الأيونات الموجبة (الكالسيوم والصوديوم) بحيث يتم إزالة الاستقطاب في مناطق التشابكات لأجل السماح للإيعازات العصبية بالمرور وكذلك لتمرير الأيونات الموجبة (خاصة الكالسيوم) اللازمة لتقلص العضلات ويبدو بأن المواد المخدرة كالهالوثان تعمل على إيقاف عمل المستقبلات المنظمة وهو ما يؤدي إلى حرمان العضلات من الحصول على الإيعازات العصبية اللازمة وكذلك حرمانها من أيونات الكالسيوم.

الاستجابة لماء الأوكسجين (بيروكسيد الهيدروجين):

يستخدم بيروكسيد الهيدروجين كثيراً في التعقيم وخصوصاً في تعقيم الجروح العميقة. يؤدي بيروكسيد الهيدروجين دوره كمعقم للجروح نتيجة تحلله عند ملامسته للدم حيث يبقى لون الدم قاني فاتح مع تحرر الأوكسجين الحر على هيئة فقاقيع.

لقد وجد من خلال مراقبة استخدام بروكسيد الهيدروجين أن الدم عند بعض الجرحى يتحول إلى لون قاني غامق مع عدم تحرر الأوكسجين الحر. وتبين بعد دراسة هذه الظاهرة إلى أن تحول الدم إلى اللون القاني الغامق يعود إلى أكسدة جزيئات الهيموغلوبين وتحولها إلى ميثوغلوبين بسبب غياب أو عدم وجود أنزيم الكاتليز Catalase الذي يقوم بتحليل بيروكسيد الهيدروجين. وقد تبين من دراسة عائلة هؤلاء الأفراد بأن هذه الصفة يتحكم فيها مورث جسمي متنحي حيث يكون إنتاج الأفراد الخليطة كمية وسط من الأنزيم بين الأفراد الأصلية للمورث السائد والأفراد الأصلية للمورث المتنحي والذي يغيب فيها الأنزيم تماماً.

الاستجابة للأيزونيازيد (**Isoniazid**) الفنيل زين **Pheelzine**:

يستخدم هذا العقار في علاج التدرن الرئوي (السل) وهو علاج فعال ويمتص بسرعة في الأمعاء ويبقى تركيزه عالياً في الدم لفترة طويلة قبل تحلله. وجد من خلال مراقبة تركيز هذا الدواء في الدم بأن تركيز هذا الدواء ينخفض بعد فترة وجيزة لديهم حيث يتحلل بسرعة مقارنة بالآخرين.

أوضحت الدراسات الوراثية التي أجريت على عوامل هؤلاء المرضى بأن سرعة تحلل الدواء يرجع إلى مورث سائد جسمي حيث يتميز الأفراد الأصليون للمورث الطافر بسرعة تحلل العقار لديهم بينما يتحلل العقار ببطئ عند الأفراد المتنحية الأصلية وتقع الأفراد الخليطة في سرعة تحللها للعقار بين الاثنين. وقد وجد من دراسة التركيب الوراثي المتعلق بهذا العقار بأن 50% من سكان الولايات المتحدة وأوروبا بهيئة متنحية أصلية مما يجعل تحلل العقار لديهم بصورة بطيئة.

كما وجدت نفس المشاهدات عند استخدام دواء الفنيل زين الذي يستخدم في حالات الاكتئاب حيث يستجيب للعقار الأفراد الذين يحتفظ دمهم بالعقار لفترة طويلة بدرجة أكبر من الأفراد الذين يتحلل عندهم العقار بسرعة.

الاستجابة للبريماكوين **Primaquine**:

يستخدم البريماكوين كعلاج فعال في حالات الإصابة بالملاريا الحادة وهو يُفضل على الكينين Quinine لأنه قادر على منع معاودة المرض. لقد تبين من خلال مشاهدة المرضى الذين يتناولون هذا العقار بأن بعضهم يظهر حساسية شديدة لهذا العقار بعد عدة أيام من تناولهم الدواء تظهر على هيئة بول أسود وانخفاض في أعداد خلايا الدم الحمراء والإصابة باليرقان وتؤدي الحالات الشديدة من الحساسية إلى الوفاة. إلا أن أغلب هذه الأعراض تختفي بعد عدة أيام من الانقطاع عن تناول العقار.

تبين من خلال الدراسات الوراثية لهؤلاء المرضى بوجود نقص لديهم في أنزيم جلوكوز6- فوسفات دي هايدروجينز Glucose 6-Phosphate dehydrogenase (G6PD) الذي يتركز في أغشية خلايا الدم الحمراء وينشأ هذا النقص نتيجة لوجود مورث متنحي مرتبط بكروموسوم الجنس X.

يعمل أنزيم G6PD في حالة وجوده على أكسدة مركب بيتا جلوكوز 6- فوسفات بمساعدة الأنزيم المساعد NADP+ وأيونات المغنيسيوم Mg++ وتحويله إلى فوسفوجلوكونيت أولاً ثم إلى المركب كيتوفوسفوجلوكونيت. وينتج عن ذلك العديد من جزيئات مركب الطاقة الوسطي NADPH إضافة لعدد من جزيئات الطاقة ATP. وتعتبر الأكسدة التي تتم بواسطة

الإنـزيم G6PD هـي الطريقـة الوحيـدة لأكسـدة المركـب VADPH علـى الحفاظ على الهيموغلوبين من الأكسدة حيث يؤدي وجود هذا المركب إلى إنتاج الجلوتاثيون المختزل Glutathione الذي يمنع تحول الهيموغلوبين بواسـطة عوامـل الأكسـدة أو الاختـزال الخارجيـة (كالأدويـة) إلـى ميتاهيموغلوبين.

كما يساعد وجود المركب NADPH على إبقاء الهيئة الطبيعية للغشاء الخلوي لكريات الدم الحمراء وانتظام عمل مضخات أيونات الصوديوم يعود طبيعية.

إن غياب أنزيم G6PD يؤدي إلى توقف أكسدة الفوسفوجلونيت وتوقف إنتـاج مركـب NADPH وبالتـالي سـهولة أكسـدة الهيموغلـوبين بعوامـل الأكسـدة الخارجيـة مثـل عقـار البريمـاكوين وغيـره وترسـبه علـى هيئـة ميتاهيمو غلوبين مؤدياً إلى تحطم خلايا الدم الحمراء وحصول فقر الدم المترافق مع اليرقان. ويمكن ملاحظة الميتاهيموغلوبين في خلايا الدم الحمراء عند صياغتها بالمثيل البنفسجي على هيئة أجسام تدعى بأجسام هاينز Heinz Bodies.

ويذكر بأن نقص أنزيم G6PD أكثر تكراراً عند المجاميع السوداء عنه عند المجاميع البيضاء من البشر.

كم يـذكر بـأن نقـص أنـزيم G6PD يـؤدي أيضـاً إلـى حساسية لعقـاقير أخـرى مثـل الفيناسـتين Phenacetin وبعـض مركبـات السلفاناميد وكـذلك ارتباطـه بالحالـة المعروفـة بالفـافيرم Favism التـي تنشـأ عنـد تنـاول الفـول البلدي الربيعي.

الحساسية الكومارين Couemarin والبارتيورات Barbiturates:

الكومـارين هـو أحـد المـواد المانعـة للـتجلط الـدموي التـي تسـتخدم فـي حالات طبيعية معينة مثل الإصـابة بضـعف عضـلات القلـب Myocardial Infraction كمـا يسـتخدم فـي مقاومـة الفئـران والجـرذان حيـث يـختلط مـع بعض الأغذية وينشر في المنازل والحقول ويؤدي إلى سيولة الدم وإحداث نزيف داخلي قاتل, أما الباربتيورات فهي عقـاقير مهدئـة ومنومـة وتستخدم بعد العمليات الجراحية لتخفيف الآلام.

وجد من خـلال ملاحظـة الأفـراد الخاضـعين لـهذه العقـاقير بـأن بعضـهم يبدي مقاومة الكومارين بينما يحتاج آخـرين إلـى كميـة أقل للمحافظـة علـى سيولـة معينة للدم.

أمـا فـي حالـة البـاربتيورات فقد شـوهد أن بعـض الأفـراد تظهـر علـيهم أعـراض تعـرف بمجملهـا باسـم البروفيريـا Prophyria عنـد تنـاولهم هـذه العقارات وتتراوح الأعراض بين آلام في البطن وتقيء وارتفاع في ضغط الدم وضـعف عضـلي وضـيق فـي النفس وحساسية شـديدة لأشـعة الشمس (تتكون فقاقيع مائية تخلف عند شفاءها علامات داكنة).

وفـي الحـالات الحـادة مـن الحساسـية تتكـون مركبـات مثـل حـامض دلتـا أمينوليفولينيك Delta Amino Leuvlinic Acid ومركـب Prophobilinogen التي تفرز مع البراز ويؤدي تراكمها في الدم إلى الفشل الكبدي.

لقد تبين من خلال دراسـة سـجلات عـائلات هـؤلاء المرضـى بـأن سـبب المقاومة أو الحساسية يعود لوجود مـورث جسـمي سـائد مسؤول عن فشـل بنـاء الأنزيمات اللازمة لإتمام عملية تمثيل هذه العقاقير.

ونظراً لوجود أنماط مختلفة من البروفيريا فإنه يعتقد بأن عدداً من المورثات ربما تشارك في إظهار هذه الحالة.


6
الفصل السادس
الأمراض اللامندلية
Non-Mendelian Disorders

الفصل السادس

الأمراض اللامندلية

Non-Mendelian Disorders

الأمراض اللامندلية

الأمراض اللامندلية هي مجموعة كبيرة من الأمراض التي تشذ في توارثها عن قوانين مندل. ويتم توارثها بطرق غير اعتيادية.

الأمراض الكمية:

إن الأمراض التي تم دراستها في الفصول السابقة هي أمراض ذات نمط توارث واضح ويمكن متابعتها في الأجيال. كما يمكن تحديد احتمالية الإصابة بها نتيجة لخضوعها الكامل لقوانين مندل, لذلك سميت هذه الأمراض بالأمراض المندلية. إلا أن هناك أمراض وصفات لا يمكن تحديد طريقة توارثها بنفس السهولة نتيجة لدور عدد غير محدد من المورثات إضافة لدور البيئة في إظهار هذه الأمراض. تسمى مثل هذه الأمراض بالأمراض متعددة العوامل Multi Factorial Diseases وتسمى وراثتها بالوراثة الكمية Quantitative Genetics بينما يسمى التأثير المتعدد للمورثات Polygenic.

لا يمكن تحديد هذه المجموعة من الأمراض اعتماداً على قوانين مندل أو بناء الأشجار العائلية وإنما تعتمد طرق احصائية غير بسيطة من حساب احتمالية الإصابة بها. ومن هذه الأمراض سقف الفم المشقوق Cleft Palate ومرض القلب الخلقي Congenital Heart Disease وإضرار الأنبوب العصبي Neural Tube Defect والصرع Epilepsy والذهان Psychosts وانفصام الشخصية Schizophrenia ومرض السكر Diabetes Mellitus وغيرها (جدول 6-1).

كما تشمل هذه المجموعة صفات بشرية مهمة مثل الطول والوزن واللون وتدعى هذه بالصفات المترية (Metrical Characters).

يمكن أن تكون الأمراض الكمية مستمرة أو غير مستمرة اعتماداً على طريقة توزيع هذه الأمراض في عشيرة بشرية محددة. فالتوزيع الطبيعي لها سيكون ذو قمة واحدة وعندها تكون الصفة أو المرض مستمراً أو ذو قمتان ليكون عندها المرض غير مستمراً حيث أن التوزيعات الثنائية تبين بوضوح أن المرض ينعزل من العشيرة نتيجة للتأثيرات الكبيرة لبعض المورثات. فالعوائل التي تتوارث نوع ما من هذه الأمراض تزداد عندها احتمالية الإصابة بالمرض مقارنة بالمعدل العام في العشيرة وتنخفض باتجاه المعدل العام كلما ابتعدت صلة القرب بينها.

إن الغالبية العظمى من الأمراض الكمية تتميز بتوزيعها التكراري المستمر والذي يشبه الناقوس Bell Shaped والذي يعرف بالتوزيع الطبيعي ويأتي ذلك من أن الصفة أو المرض هو محصلة لتأثير أعداد من المورثات دون سيادة أو تنحي وتأخذ معظم الأفراد فيه قيماً متوسطة بينما يقع الأفراد ذات القيم العالية أو المنخفضة في أطراف التوزيع.

جـدول 6-1: بعـض الأمـراض والتشـوهات الناتجـة عـن تـأثير كمي وراثي – بيئي.

Actopic disease Cleft lip + Cleft palate Congenital dislocation of the lip Diabetes mellitus (Both types) Epilepsy Gallstones Hypertenesion Hyperthyroidism Isehaemic heart Leprosy Manic depression Mental handicap (Some cases) Multiple sclerosis Psoriasis Pyloric stenosis Rheumatoid arthritis Sarcoidosis Schizopheria Senile dementia Spina bifida	Talipes squinovarus Tuberculosis Diastolic blood Pressure Neural tube defect\ Enecephaly Hirschsprung disease



شــكل 6-1:   حالــة بــروز الــدماغ دون وجــود غطــاء الجمجمــة Enecephaly ناتجة عن تأثير كمي وراثي – بيئي .

وحيث أن المرض هو نـاتج من تفاعل مجموعة من المورثـات والبيئـة لذلك فإن حساب التأثير الوراثي من المرض (المكافئ الوراثي أو معامل التوريث Heritability) يكون صعباً ولكنـه ممكـن مـن خـلال معرفـة مـا يطلق عليه بالتلازم Correlation حيث تكون قيمة التلازم بين الأقارب واحد وتنخفض إلى النصف عند الأبناء وكلما زاد معامل التلازم عكس التأثير العالي للوراثة في صفة ما.

ويستنتج من ذلك بأن احتمالية الإصابة بمرض كمي بين الأقارب تزداد وتعتمد هذه الزيادة على درجة القرابة حيث أن احتمالية إصابة الأقارب من الدرجة الأولى تقع بين متوسط الأفراد المصابة والمتوسط العام للسكان بينما احتمالية إصابة الأقارب من الدرجة الثانية تقع بين متوسط الأقارب من الدرجة الأولى والمتوسط العام للسكان وقد تتدخل بعض العوامل في انحراف هذه المتوسطات عن قيمتها الحقيقية.

إنـه من الصعوبة كما يلاحظ مما سبق دراسة الأمراض الكمية لعدم معرفتنا الدقيقة بتأثير العوامل الوراثية منفردة وكذلك التأثير البيئي عليها.

فمثلاً في أمراض مثل سقف الفم المشقوق وعدم انغلاق القناة العصبية أو وجود فجوات غير مغلقة الجمجمة وغير ذلك وجد بأن الإصابة بهذه الأمراض يعتمد على مرحلة حرجة في النمو فإذا تمكن سقف الفم أو حافات القناة العصبية مثلاً من اجتياز المرحلة الحرجة للنمو فإنه سيتم

غلق سقف الفم والقناة العصبية نتيجة التقاء حافات النمو مع بعضهما في الوقت المناسب. أما إذا لم تتمكن حافات النمو من الإلتقاء في الوقت المناسب فيبقى سقف الفم مفتوحاً وكذلك القناة العصبية. وتعتمد المرحلة الحرجة على سرعة نمو بقية الأجزاء المحيطة أو المجاورة لمنطقة نمو سقف الفم مثل نمو الجمجمة والرأس واللسان وعرض الفم حيث يؤخر نمو هذه الأجزاء التقاء نهايات سقف الفم. ويلاحظ مما سبق بأن صفة شق الفم تؤثر فيها سرعة نمو حافات سقف الفم بسرعة نمو الأجزاء المجاور لها وهو تأثير غير وراثي بينما التحكم في سرعة وصول حافات النمو لسقف الفم يكون وراثياً ومن الصعب تحديد قيمة تأثير كل منها على هذه العملية. يختلف تكرار هذه الأمراض في المجتمعات تبعاً للتباين البيئي والاقتصادي وأساليب الزواج ولكن يتراوح تكرارها بين أقارب الدرجة الأولى إلى حوالي 3-5 أضعاف تكرارها في بقية السكان أو العشيرة ولا يزال الجدال كبيراً حول الأسباب الوراثية الحقيقية لهذه المجموعة من الأمراض والصفات.

المُدمغ Imprinting:

لوحظ أن بعض الأمراض المتوارثة لا تتبع النمط المتوقع لها استناداً إلى الوراثة المندلية ولا يتساوى فيها تأثير المورثات الأبوية مع تأثير المورثات الأمية وسميت مثل هذه الحالات بالمدمغات ولا يوجد تفسير واضح لهذه الحالات. إلا أنه يمكن معرفة بعض هذه التفاصيل عن طريق تحليل الـ DNA جزيئياً. إن تأثير هذه الحالات يمكن متابعته في مستويات تحليلية مختلفة. فمثلاً ثلاثيات الكروموسومات من الإنسان تعتمد على الكروموسوم الإضافي فيما إذا كان من الأب أو الأم. فإذا كان الكروموسوم الإضافي أبوي Paternal فإن المشيمة عند هذه الأجنة تكون كبيرة الحجم وهناك تغيرات كبيرة من الأغشية الجنينية ويتميز الجنين برأس كبيرة وجسم صغير. أما إذا كان مصدر الكروموسوم الإضافي الأم Maternal عندئذ فإن المشيمة تكون صغيرة الحجم وغير مكتملة النمو دون تغيرات في الجدران الجنينية وعدم اكتمال نمو الجنين.

ومن أفضل نماذج المدمغات في الإنسان هو الحذف الحاصل في المنطقة q-11-13 من كروموسوم 15 والذي يؤدي إما إلى الإصابة بتناذر برادر – ويلي Prader-Willi Syndrome أو إلى تناذر انجلمن

Angelman 's Sundrome. تختلف الأعراض المرضية لهذين التناذرين تماماً. ففي تناذر برادر – ويلي تكون الأعراض حادة. Severe Eronatal Hypotonia, Failure to Thrive with Later Onset of Obesity, Behaviour Problemes الأرجل واليدين صغيرة الحجم, الوجه مميز, تخلف عقلي, ضمور في الناسل.

أما في تناذر انجلمن فالأعراض مختلفة تماماً مثل تخلف عقلي حاد Ataxia , Microcephaly , صرع وفقدان النطق.

يقع المورثان المسؤولان عن هذين التناذرين في موقع واحد على كروموسوم 15(15q11-13) ولهما نفس الحذف. والاختلاف الوحيد بينهما هو جنس الكروموسوم فيما إذا حصل الحذف من كروموسوم 15 الأبوي فإن ذلك يؤدي إلى تناذر براد – ويلي أما إذا حصل الحذف في كروموسوم 15 المشتق من الأم فإنه يؤدي للإصابة بتناذر إنجلمن.

في بعض مرضى تناذر برادر- ويلي لوحظ عدم وجود حذف في أي من كروموسوم 15 ولكنه وجد بأن هذين الكروموسومين اشتقا من الأم وتدعى مثل هذه الحالة Uniparental Disomy بالثنائيات أحادية الأب. ويسلك أي حذف يحصل في هذه الكروموسومات في تأثيره على الجنين سلوك الحذف في الكروموسوم الأبوي. كما لوحظ أن بعض مرضى هذا التناذر يحملون كروموسومات 15 متطابقة من أب واحد (Isodisomy) أو غير متطابقة (Heterodisomy). وتنشأ الثنائيات الأحادية الأب من خلايا ثلاثية الكروموسوم (Trisomic) فقدت كروموسوم مفرد منها (شكل 6-1) ونادراً ما نجد هذه الثنائيات أحادية الأب من تناذر إنجلمن.

لا يقتصر وجود الكروموسومات المدمغة على هذه التناذرات فقد لوحظت في بعض أنواع السرطان مثل سرطان ويلمز Wilm 's Tumor وسرطان الجلوما العائلي Familial Glomus Tumor وتناذر بيكوذ – وديمان Beckwith-Wiedemann Syndrome .

الموزائيكية **Mosaicim**:

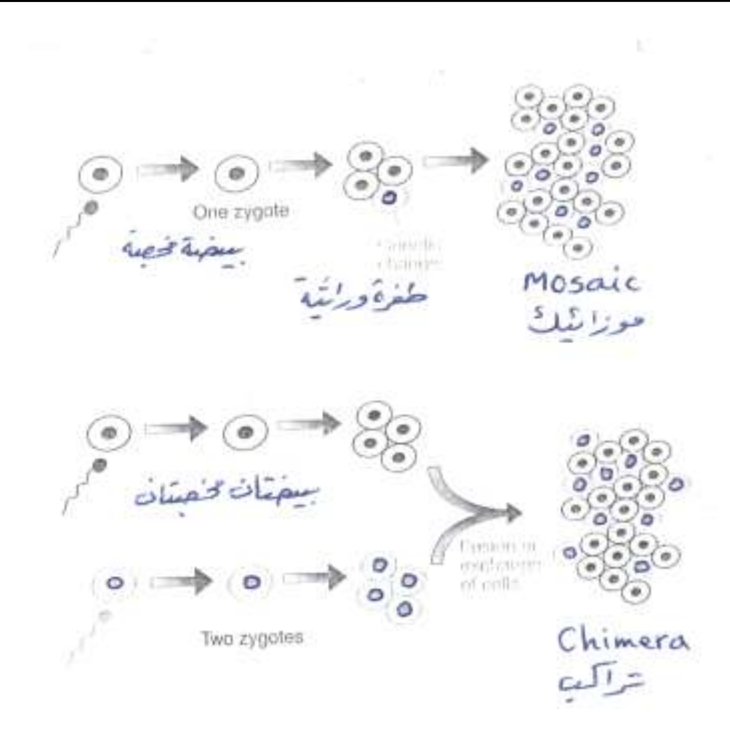
يشار بالموزائيكية إلى نوعين من الخطوط الخلوية أو أكثر تنشأ من بيضة مخصبة واحدة ولكنها تختلف عن بعضها في بعض المكونات الوراثية. تنشأ الموزائيكية من أحداث وراثية تحصل بعد الإخصاب وتبرز

إمـا فـي مرحلـة مبكـرة مـن الإنقسـامات الجنينيـة أو فيمـا بعـد وتعزى هذه الإصابة بمرض ما إلى الخط الخلوي غير الطبيعي (شكل 5-1).

وتشـاهد الموازئيكيـة فـي الخلايـا الأنثويـة حيـث يـتم تثبـيط أحـد كروموسـومي X وتحصـل عمليـة التثبـيط فـي المراحـل الجنينيـة المبكـرة وتكـون عشـوائية, فـإذا كـان أحـد كروموسـومي X فـي هـذه الخلايـا بأليـل مختلف عن أليل الكروموسوم الثـاني فإنـه سوف يكون لـدينا نوعـان من الخلايـا الأنثويـة وتبعـاً للكروموسـوم المثـبط. لـذلك أهميـة فـي الأمـراض المرتبطة مع كروموسوم X حيث أن الإناث الحاملـة لصفة المرض تكون خالية عادة من الأعراض المرضية لوجود كروموسوم X الطبيعي نشيطاً أما فـي الحـالات التـي يـتم فيهـا تثبـيط الكروموسـوم الطبيعـي فـإن أعـراض المرض يمكن أن تظهر على الإناث الحاملات لصفة المرض نتيجة لنشاط كروموسوم X الطافر.

إضـافة لـذلك فـإن الطفـرات الوراثيـة المفـردة التـي تحصـل فـي الخلايـا الجسمية تؤدي أيضاً إلى حالة الموزائيكية ويمكن ملاحظة ذلـك فـي العديد مـن أنـواع السـرطان. إن حصـول حالـة الموزائيكيـة فـي الأنسـجة الجنسـية يمكن أن يوفر لنا تفسيراً لبعض حالات ظهـور الأمـراض عنـد ذريـة لآبـاء طبيعيـة فمـثلاً فـي مـرض دوشـان (ضـمور العضـلات) فـإن هنـاك حـوالي 20% من الآبـاء تكون طبيعيـة لفحوصـات حمل صـفة هذا المـرض ويعتقد بأن هؤلاء يحملون خطوط خلوية جنسية موزائيكية لمورث الأسترفين.

وتعتبـر الموزائيكيـة اسـتناداً إلـى ذلـك أحـد معوقـات تجديـد احتماليـة الإصابة في الأمراض المرتبطة مع كروموسوم X.



شكل 6-1: آليات ظهور الموزائيكية والتراكب عند الأفراد حيث يلاحظ بأن الموزائيكية تظهر من طفرة وراثية في خلية مشتقة من نفس الجنين. بينما ينشأ التراكب من نوعين من الخلايا.

الأمراض المرتبطة مع الخلل المايتوكونديري

Mitochondrial Disorders

تمتلك الخلايا عدة أنواع من العضيات السايتوبلازمية التي تقوم بالعديد من الوظائف الحيوية الخلوية وتعتبر المايتوكوندريا أحد أهم هذه العضيات لارتباطها الوثيق بأنظمة إطلاق الطاقة داخل الخلايا.

للمايتوكوندريا مادة وراثية مستقلة عن المادة الوراثية النووية مؤلفة من عدة نسخ من شريط DNA مزدوج دائري يبلغ طوله 16.567 زوج قاعدي ويمثل 37 مورثاً خالية من المتداخلات Introns.

سجل العديد من الطفرات الوراثية المايتوكونديرية ويبلغ تكرار هذه الطفرات 5-10 مرات أكثر من تكرار الطفرات في المادة الوراثية النووية. تشفر مورثات المايتوكوندريا لحوالي 22 نوعاً من جزيئات الحامض النووي الريبوزي الريبوسومي (RNA) والناقل (tRNA) إضافة

إلـى 13 سلسلة عديد الببتيد تمثل النظـام التنفسـي. بينمـا تشـفر البروتيـات التنفسية الأخرى من مورثات نووية.

إن الخلل الوظيفي فـي المايتوكونـدريا عندئـذ يعـود إلـى طفـرات وراثيـة في المورثات النووية ذات العلاقة أو في مورثات المايتوكوندريا.

وحيث أن الوظيفة الأساسية للمايتوكوندريا هو إطلاق الطاقـة لـذلك فـإن الخلل الوظيفي فيها يمكن أن يؤثر بصورة سيئة على الأنسجة الهامـة مثـل الدماغ والعضلات القلبية والهيكلية والعين.

وقد شخصت الطفرات الوراثيـة المايتوكونديريـة فـي عـدد مـن الأمـراض مثل

LH'ON' : L' eber's her`editaruy optic nruropathy

DERRF: Myoclonic epilepsy with rayged red fibers.

MELAS: Mitochondrial myopathy with encephalopathy.

Lactic aidosis and Storke-like episodes.

وتناذر كايرنز – ساير Kaerns-Sayre Syndrome.

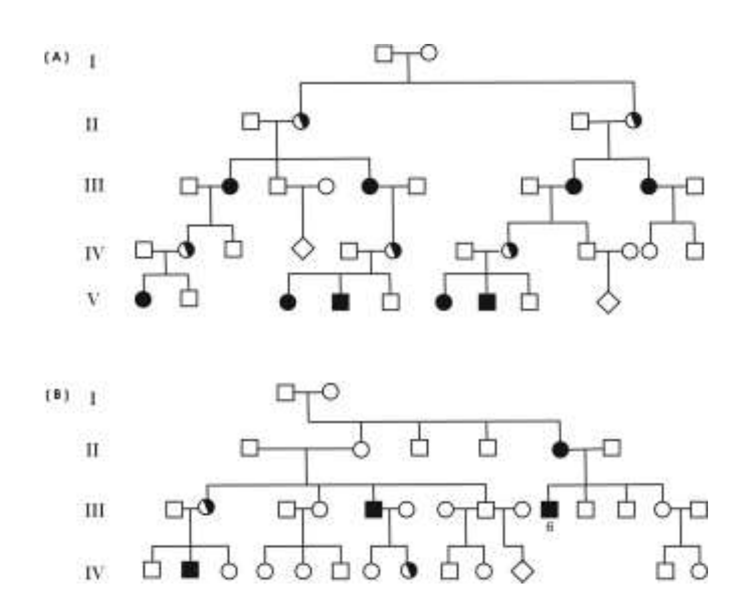
وتنتقل هذه الطفرات إلـى الفـرد عبـر بويضـة الأم حيـث تعتبـر مصـدر السـايتوبلازم والمايتوكونـدريا. لـذلك فـإن جميـع ذريـة الأم الحاملـة للطفـرة تكون حاملة للطفرة الوراثية المايتوكونديرية وغير مصابة.

بينما تكون ذرية الأب الحامل للطفرة الوراثية طبيعية. إنه من الصعوبة بناء شجرة لتتبع نمط توارث الطفرات المايتوكونديرية لأن بعض الحاملين للطفرة لا تظهر عليهم أعراض المرض. فمثلاً في مرض LHON المسبب للعمى فإن نصف أبناء الأم الحاملة للطفرة الوراثية تصاب بالمرض وأن واحد من كل خمسة بنات تظهر عليها أعراض المرض (شكل 6-2) و (جدول 6-2).

ونظراً لوجود نسخ مـن الــ mt DNA طبيعيـة لـذلك فـإن الخلايـا تحتـوي على خليط من المايتوكوندريا الطبيعية والطافرة أثناء الانقسام الخلوي فإنه يتكون ثلاثة أنـواع مـن الخلايـا وهـي خلايـا بمايتوكونـدريا طبيعيـة وخلايـا بمايتوكونـدريا طـافرة وخلايـا بمايتوكونـدريا خليطـة وتعتمـد شـدة الإصـابة بـــالمرض علـــى نســـبة الخلايـــا الطبيعيـــة والخلايـــا الخليطـــة إلـــى الخلايا الطافرة.

الأمراض المرتبطة بالإختلالات الكروموسومية:

وهـي مجموعـة كبيـرة مـن الأمـراض والتنـاذرات التـي تظهـر نتيجـة لصـور غيـر طبيعيـة للكروموسـومات وسـيرد تفصـيلها لاحقـاً فـي فصـل خاص.



شـكل 6-2: شـجرتان لعـائلتين تتوارثـان أمراضـاً مرتبطـة بخلـل فـي DNA المايتوكوندريا.

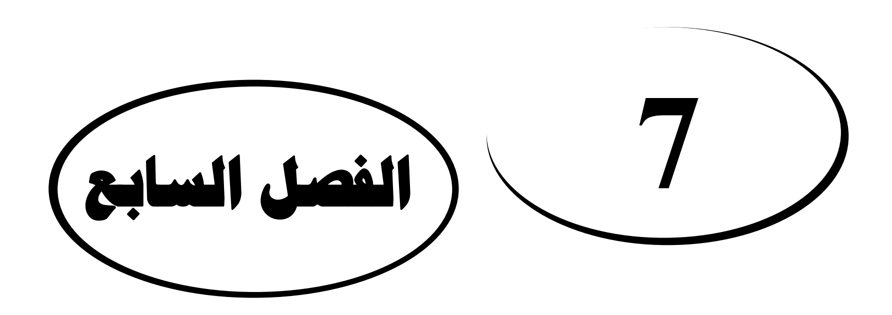
A- تمثـل طريقـة انتقـال مـرض فقـدان السـمع المـرتبط بطفـرة وراثيـة مايتوكونديرية.

B – تـوارث مـرض ضـعف البصـر Optic Atrophy المـرتبط بطفـرة وراثيـة مايتوكونديرية.

لاحـظ الانتقـال غيـر المتوقـع للطفـرات المتماثلـة مـن أم حاملـة لصفة المرض

جـدول 6-2: بعـض الأمـراض الناشـئة عـن وجـود طفـرات وراثيـة مايتوكونديرية.

موقع الطفرة في المايتوكوندريا **mtDNA**	المرض
في الموقع 11778 من المورث ND4	Leber's optic atrophy
في مورث t RNA الخاص باللايسين Lys t RNA	Myoclonic epilepsy, with other nerological symptoms and ragged ted tibers in skeletal muscle. (MERRF)
تضاعف متكرر في مواقع مختلفة Tandem duplication أو حذف كبير	Kaerns-Sayre syndrome
طفرة في مورث t RNA الخاص بالليوسين (Leu t RNA)	Encephalomyopathy (MELAS) with lactic acidosis and Storke-like episodes


7
الفصل السابع


الفصل السابع
الأمراض المرتبطة بشذوذ الكروموسومات
Chromosomal Disorder Diseases

الفصل السابع

الأمراض المرتبطة بشذوذ الكروموسومات

Chromosomal Disorder Diseases

مقدمة

منذ اكتشاف الكروموسومات ومعرفة دورها في الانقسامات الخلوية عام 1890 أصبحت هذه الأجسام محوراً تدور حوله العديد من الأبحاث العلمية والتي تكللت بالنجاح الباهر بعد اكتشاف المادة الوراثية DNA ودور الكروموسومات في حملها.

بينت هذه الأبحاث الدور الهام للكروموسومات ليس فقط كونها مخزناً للمورثات البشرية وغيرها بل لأن وجودها بالهيئة والعدد الطبيعيين ضروريان لوجود الخلايا والكائنات الراقية بصورة غير مشوهة مكتملة الخلق.

وقد أثبتت الدراسات والأبحاث الحديثة ارتباط الكروموسومات بالكثير من التشوهات الخلقية والأمراض والتناذرات وأصبحت الآن محور رئيسي من محاور الوراثة الطبية التي تحاول فك الطلاسم الوراثية التي تقف خلف هذه العلل.

في هذا الفصل سنلقي الضوء على الدور الوراثي للكروموسومات وأهمية هذا الدور من خلال التعرض لكثير من الأمراض والتناذرات والتشوهات الخلقية التي ترتبط بالكروموسومات.

تركيب الكروموسومات:

تتميز جميع الخلايا البشرية باستثناء خلايا الدم الحمراء والصفائح الدموية بوجود نواة تشغل موقعاً في الخلايا غالباً ما يكون مركزياً.

تفصل المحتويات النووية التي تشغل مساحة النواة عن السايتوبلازم بغشاء رقيق يدعى بالغشاء النووي. يمتلك هذا الغشاء أعداد من الثقوب النووية التي تساهم في ربط المحتويات النووية مع السايتوبلازم. تظهر نوى الخلايا المفحوصة تحت المجهر مؤلفة من بقع داكنة وفاتحة اللون. تدعى هذه جميعاً بالكروماتين Chromatin الذي يظهر في الخلايا الساكنة على هيئة شبكة دقيقة غير منتظمة تنتشر على هيئة بقع متنوعة.

أطلق على البقع الفاتحة اللون من الكروماتين بالكروماتين الحقيقي Euchromatin بينما أطلق على البقع الغامقة اللون بالكروماتين المتباين Heterochromatin (شكل 7-1).

لقد تبين من التحليل الكيميائي لمحتوى النوى بأن الكروماتين مؤلف من نـوعين مـن البروتينـات وهـي البروتينـات الهسـتونية والبروتينـات اللاهستونية وأحماض نووية RNA , DNA.

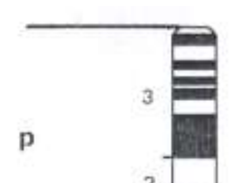
تتميز البروتينات الهستوتية بكونها بروتينات قاعدية ذات شحنة موجبة في الوسط المتعادل ويعزى ذلك إلى وجود نسبة عالية 20-30% من أحماض الأرجنين واللايسين الموجبة الشحنة في تركيبها. فيما تكون البروتينات اللاهستونية سالبة الشحنة وحامضية.

أوضحت التحاليل الكيميائية بأن هناك خمسة أنواع من البروتينات الهستونية سميت H4, H3, H2b, H2a, H1. وقد تبين بأن الشبكة الكروماتينية في النواة مؤلفة من هذه الأنواع من البروتينات إضافة للحامض النووي DNA.

إن الصورة البنائية التي يمكن تصورها عن الكروماتين واستناداً إلى المعلومات السابقة والمعلومات الأخرى هي أنه مؤلف من شبكة من الألياف ذات أجسام حبيبية تختلف في توزيعها على نوعي الكروماتين. ويبدو بأن الشبكة مؤلفة من شريط مركزي من الـ DNA يتخلله معقدات تركيبية تبدو كأجسام حبيبية تحت المجهر سميت بالنيكليوسومات Nucleosomes تمثل الوحدات الأساسية للكروماتين (شكل 7-2).

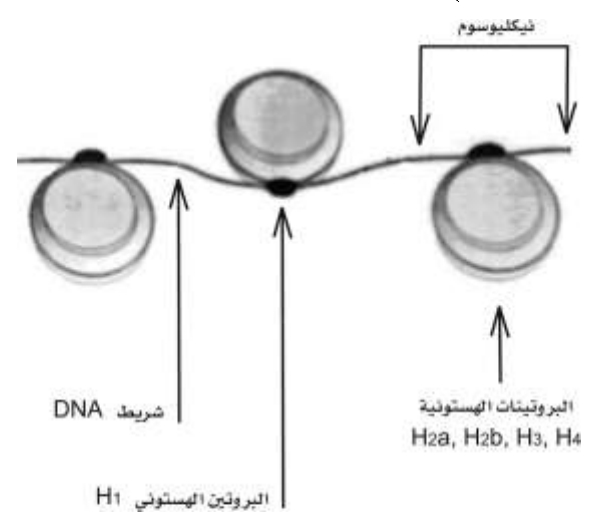
تبدو النيكلويوسومات على هيئة أجسام بيضوية يبلغ قطر كل منها حوالي 110 انكستروم (A) وارتفاع 60 انكستروم. يتألف النيوكليوسوم من لب مؤلف من ثمانية جزيئات من البروتينات الهستونية H4, H3, H2b, H2a محاطة بلفتين من شريط الـ DNA بطول 146-160 زوج قاعدي ويعمل بروتين H1 على تثبيت اللفتين من الخارج ويمتد شريط الـ DNA من نيوكليوسوم إلى أخرى لربطها بعضها مع بعض .

تختفي الشبكة الكروماتينية التي سبق الحديث عنها عند دخول الخلايا إلى الطور البني من الانقسام الخلوي ويظهر بدلاً عنها أجسام رفيعة طويلة وحبيبية مستقلة تلتف على بعضها تدعى الصبغيات أو الكروموسومات Chromosomes. ويبدو بأن ألياف شبكة الكروماتين تمثل هذه الكروموسومات. بحيث يحتفظ كل كروموسوم بجزء من الكروماتين. وبالنظر لاختلاف طول الكروموسومات فإن كمية الكروماتين الموجود فيها مختلف أيضاً.



شكل 7-1: أ. نواة خلية ويلاحظ توزيع الكروماتين الحقيقي (فاتح اللون) والكروماتين المتباين (غامق اللون).

ب. كروموسوم بشري محزم بطريقة G (G-banding) ويلاحظ مناطق الكروماتين الحقيقي (فاتحة اللون) ومناطق الكروماتين المتباين (غامقة اللون).



شكل 7-2: تنظيم البروتينات الهستونية والحامض النووي DNA في النيكليوسومات المؤلفة للكروماتين النووي .

يزداد وضوح الكروموسوم بتغلظها عند دخولها إلى أطوار أو مراحل الانقسام الخلوي. ويظهر من الفحوصات الكيميائية والمجهرية الدقيقة للكروموسومات بأنها مؤلفة من قلب بروتيني لاهستوني يمثل سقالة

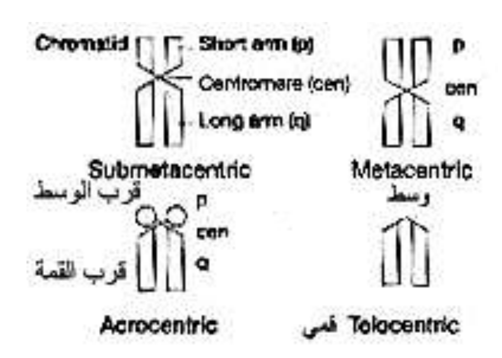
Scaffold يترتـب حولهـا الكرومـاتين علـى هيئـة تجمعـات مـن الحلقـات الشعاعية التي تتوزع على طول السقالة مما يعطي الكروموسومات عند فحصها بالمجهر الإلكتروني مظهراً يشابه ألياف القطن الدقيقة.

تختلف كثافة حلقات الكروماتين الشعاعية من موقع على الكروموسوم إلى آخر. ففي المواقع التي تمثل الكروماتين المتباين تكون هذه التجمعات متقاربـة إضـافة لوجـود كثافـة عاليـة مـن النيكليوسـومات فيهـا ممـا يعطيهـا كثافـة عاليـة فـي حـين تقـل كثافـة هـذه التجميعـات فـي مواقـع الكرومـاتين الحقيقي.

يمكـن مشـاهدة توزيـع نـوعي الكرومـاتين علـى الكروموسـومات بعـد صبغها بينما تظهر مواقع الكروماتين الحقيقي على هيئة حزم فاتحـة اللـون (راجع شكل 6-1).

لقد وجد من خلال التحليل الكيميائي للحـامض النـووي DNA فـي هـذين النوعين من الكروماتين بـأن الحـزم الغامقـة غنيـة بـالأدنين والثـايمين بينمـا تكون الحزم الفاتحة اللون غنية بالسايتوسين والجوانين.

عنـد بدايـة الطـور التمهيـدي Prophase مـن الانقسـام الخلـوي تظهـر الكروموسومات على هيئة مزدوجة مؤلفة من زوج من الأجسام المستديرة الطويلة التي تدعى كروماتيدات Chromatides تـرتبط مـع بعضـها بقطعـة مركزية Centromere. يختلف موقع قطعة الاتصال بين الكروماتيدات في الكروموسومات. فبعضها يكون وسطي الموقع Metacentric بحيث تكـون أذرع الكروماتيدات متساوية الطول. وقد يكون موقع الاتصال على مسافة قصيرة من وسط الكروموسوم Submetacentric بحيث تكون الأذرع غيـر متسـاوية فـي الطـول. كمـا قـد تكـون القطعـة المركزيـة طرفيـة أو قميـة Telocentric تتدلى منها الكروماتيدات أو تكون قـرب القمـة Acrocentric (شكل 7-3).



شكل 7-3: موقع القطعة المركزية Centromere في الكروموسومات

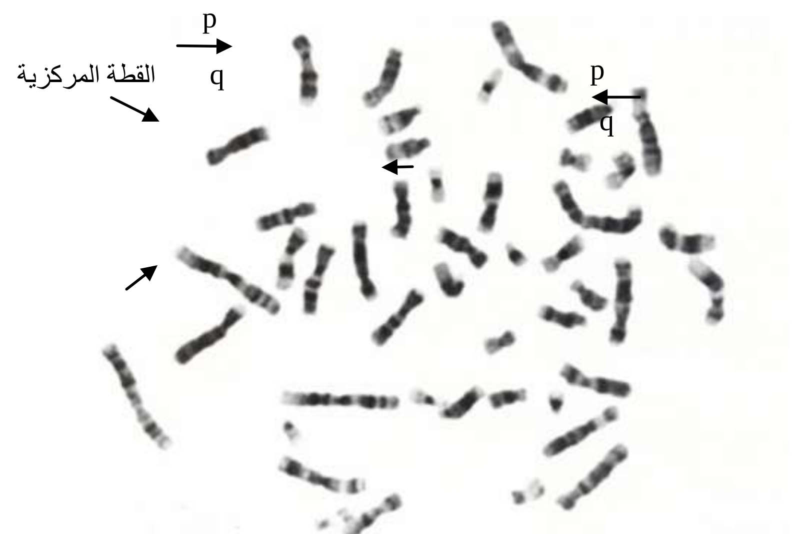
تحليل الكروموسومات البشرية

Human Chromosome Karyotyping :

تحتوي الخلايا البشرية على 23 زوج من الكروموسومات (46 كروموسوم) قسمت إلى كروموسومات جسمية Autosomes وهي كروموسومات من 1-22 وكروموسومات جنسية Sex Chromosomes شملت كروموسومي X , Y حيث يوجد نسختان من كروموسوم X في خلايا الإناث ونسخة واحدة من كل من كروموسوم X و Y في خلايا الذكور.

كل كروموسوم من هذه الكروموسومات مؤلفة من كروماتيدتين مرتبطتين مع بعضهما بالقطعة المركزية Centromre. لموقع القطعة المركزية الكروموسومية أهمي كبيرة في تشخيص وتصنيف الكروموسمات البشرية. فالكروموسومات 20 , 1 , 3 , 16 , 19 تكون وسطية القطعة المركزية بحيث تتساوى أذرع الكروماتيدات على جانبي القطعة المركزية بينما تكون الكروموسومات 21 , 22 , 13 , 14 , 15 و Y طرفية القطعة المركزية. أما الكروموسومات الباقية فتكون قريبة الوسط في قطعها المركزية (شكل 7-4 وجدول 7-1). يؤدي وجود القطعة المركزية في الكروموسومات وخصوصاً عندما يكون موقعها في غير الوسط إلى وجود أذرع قصيرة وأخرى طويلة. دعيت الأذرع القصيرة بالحرف P والأذرع الطويلة بالحرف q وقسم كل ذراع إلى مناطق تراوحت بين 2-3 واستناداً إلى عدد الحزم في كل منطقة تم تقسيم هذه المناطق إلى مواقع أصغر واستخدمت الأرقام في تحديد المناطق والمواقع (شكل 7-5). واستناداً إلى ما سبق فإنه يمكن قراءة تجمع كروموسومي من خلية أنثوية على أنه 46.XX, ولتجمع ذكوري 46.XX كما أن القراءة XP21.2 تمثل أن هذا الموقع يكون على الذراع القصير لكروموسوم X(P) في المنطقة 2, الحزمة 1 وتحت الحزمة 2. يمكن تحضير تجمعات الكروموسومات البشرية عن طريق زراعة الخلايا Tissue Cultrue إذ يزرع نموذج من خلايا الدم البيضاء المأخوذ من الوريد والمخلوط مع مانع تخثر في قنينة زراعة معقمة ومزودة بالمواد الغذائية إضافة لمركب محفز للخلايا على الانقسام Phytohaemagglutinin ولمدة 72-48 ساعة. يتم إيقاف انقسام الخلايا بعدها بإضافة الكولسميد Colcimide أو

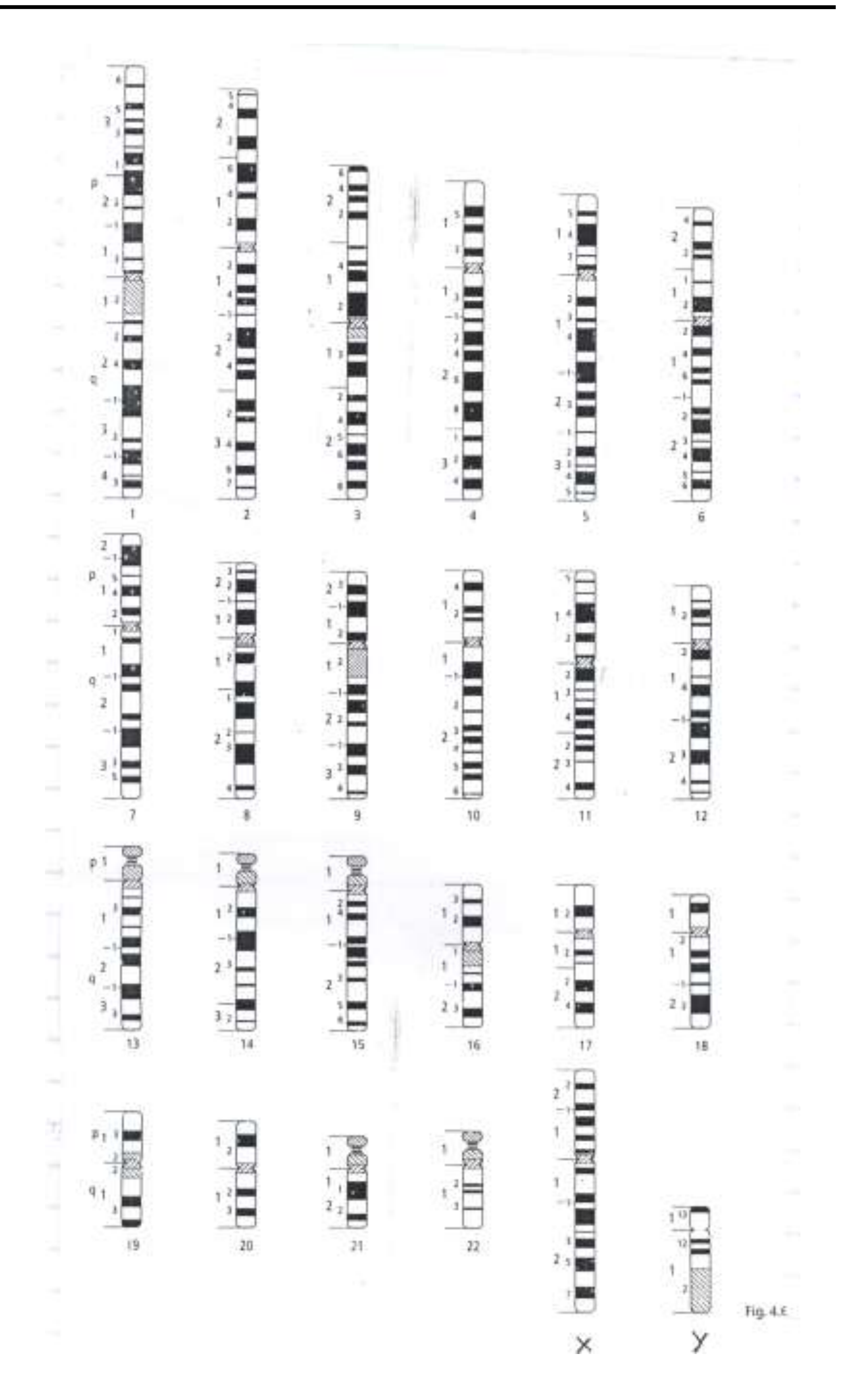
الكولجسين Colchicine الذي يعمل على إيقاف الخلايا عند طور الاستواء حيث تكون الكروموسومات واضحة وكبيرة الحجم. يتم معاملة الخلايا بعدها بمحلول ملحي مخفف Hypotonic لزيادة سعة الخلايا وفصل الكروموسومات ثم بمحلول مثبت. توضع تجمعات الكروموسومات على شرائح الزجاج عن طريق اسقاط الخلايا على الشرائح الزجاجية بالتقطير من ارتفاع حوالي 10-15 سم لتفجير الخلايا واطلاق الكروموسومات. تجفف الشرائح الزجاجية وتصبغ بصبغة جمزا ثم تفحص بالمجهر الضوئي (شكل 7-6). كما يمكن استخدام تجمعات الكروموسومات هذه في تحديد مورث معني على الكروموسومات وسيتم توضيح ذلك لاحقاً.



شكل 7-4: تجمع كروموسومي بشري مصبوغ بصبغة جمزا ويلاحظ تحزم الكروموسومات بمناطق غامقة وأخرى فاتحة. كما يلاحظ اختلاف موقع القطعة المركزي على الكروموسومات واختلاف أطوال الكروموسومات. ويرمز للذراع القصير P والذراع الطويل q.

جـدول 7-1: تقسـيم الكروموسـومات البشـرية اسـتناداً إلــى مـؤتمر باريس – فرنسا عام 1971.

وصف الكروموسومات	الكروموسومات	المجموعة
أطول الكروموسومات، كروموسومي 1 و3 وسطية القطع المركزية وكروموسوم 2 قريب الوسط.	1-3	A
الكروموسوم طويل، القطع المركزية قريبة الوسط.	4.5	B
الكروموسومات متوسطة الطول، القطع المركزية قريبة الوسط	6-12.x	C
الكروموسومات متوسطة الطول وقمية القطع المركزية	13-15	D
الكروموسومات صغيرة، القطعة المركزية لكروموسوم 16 وسطية وقريبة الوسط في كروموسومي 17 و18.	16-18	E
الكروموسومات صغيرة ووسطية القطع المركزية	19, 20	F
الكروموسومات صغيرة، قمية القطع المركزية	21.22. Y	G
القطعة الوسطية = Metacentric		
القطعة قرب الوسطية = Submetacentric		
القطعة القمية = Acrocentric		


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
X
Y
Fig. 4.£

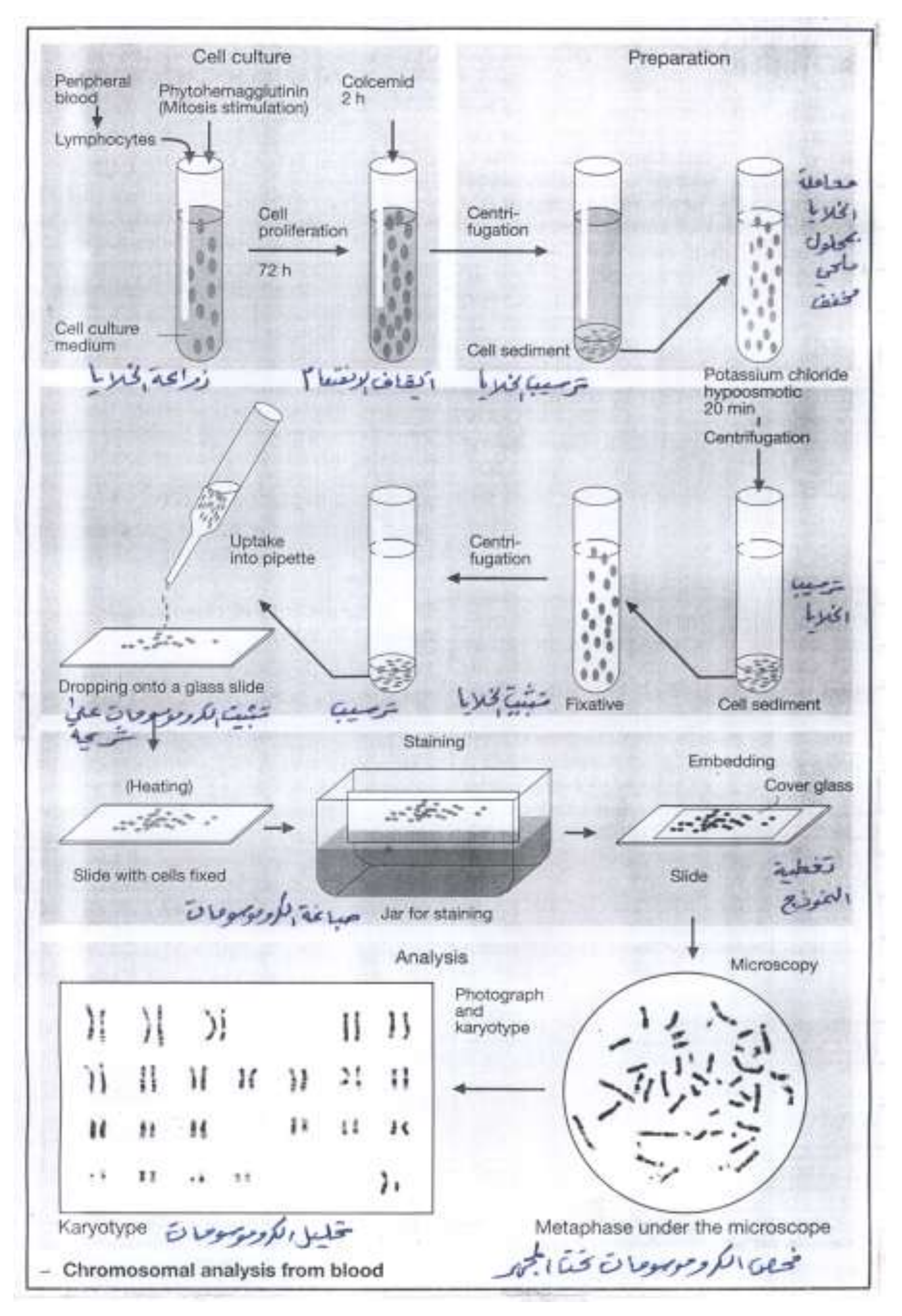
شكل 7-5: مخطط للكروموسومات البشرية موضحاً عليها أنواع الأذرع والمناطق والمواقع وخريطة حزم الكروماتين لكل كروموسوم.

إضافة للطريقة التقليدية لتشخيص الكروموسومات وذلك باستخدام المجهر الضوئي فإنه يتوفر الآن تقنيات جديدة لتشخيص الكروموسومات تعتمد فيها على الحاسوب. فمثلاً جهاز ماسح الكروموسومات والـ DNA Cytoscan يمتلك خريطة لحزم جميع الكروموسومات البشرية محفوظة في ذاكرته وفي حالة القيام بفحص تجمع كروموسومي بشري تحت المجهر المرتبط بالحاسوب فإن الجهاز يقوم تلقائياً بفصل الكروموسومات على هيئة أزواج اعتماداً على خريطة الذاكرة وثم عرضها مرتبة على شاشة حيث يمكن طباعتها آلياً.

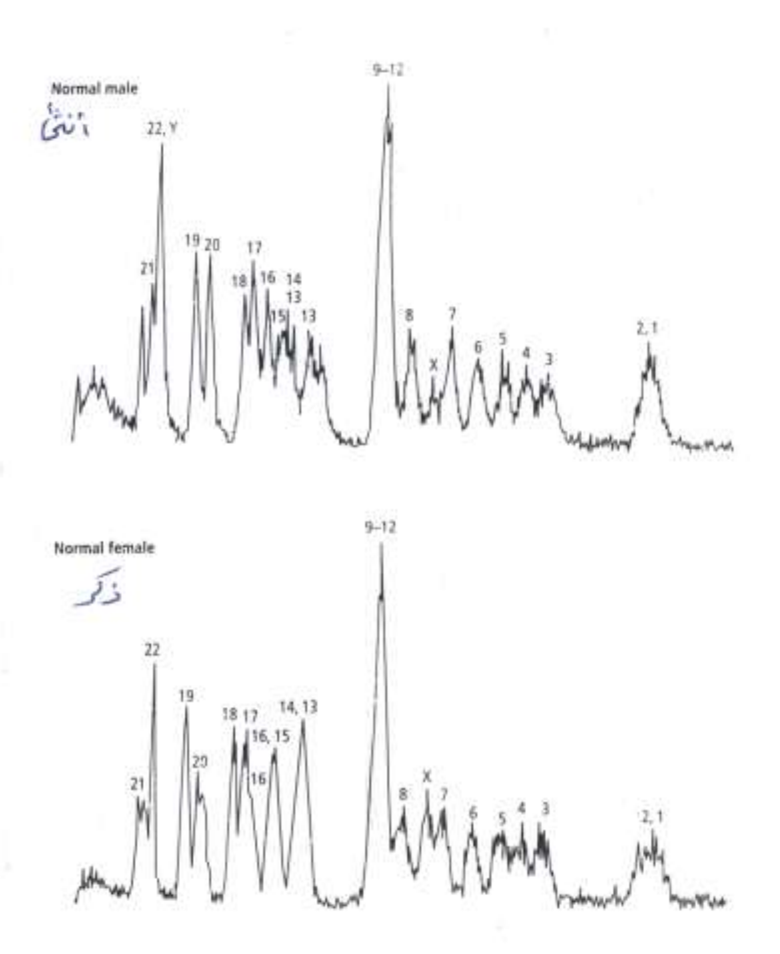
أما جهاز تشخيص الخلايا المنشطة بالفلورسنت FACS Fluorescence Activated Cell Sorter فيعتمد في التشخيص على كمية الحامض النووي DNA الموجودة في كل كروموسوم أو يعطي نتائجه على هيئة خطوط بيانية. في هذه التقنية يتم إمرار الكروموسومات المأخوذة من طور الاستواء على شعاع ليزر بعد صباغتها بصبغة فلورسنية مثل بروميد الأثيديوم Ethidium أو صبغة Hoechst 33258 أو صبغة Chromomycin A3 مما يؤدي إلى توهج كل كروموسوم.

يتم استلام قوة التوهج من كل كروموسوم عن طريق أجهزة تعقب خاصة وتترجم هذه التوهجات فيما بعد على هيئة خطوط بيانية Graphs ولكل كروموسوم (شكل 7-7).

تعتمد قوة التوهج على كمية الصبغة الموجودة على الكروموسوم ونظراً لاختلاف كمية الـ DNA في كل كروموسوم لذلك فإن كمية الصبغة تكون مختلفة في كل كروموسوم ومن خلالها يتمكن الجهاز من تشخيص الكروموسوم.



شكل 7-6: الخطوات اللازمة لتهيئة شرائح زجاجية لكروموسومات بشرية معزولة من خلايا الدم البيضاء وكذلك فحص وتحليل هذه الكروموسومات.



شـكل 7-7: طريقـة تشـخيص الكروموسـومات البشـرية باسـتخدام جهاز تشخيص الخلايا المنشطة بالفلورسنت FACS. يعتمد هذا الجهاز في التشخيص على كمية الـ DNA لكل كروموسوم.

الشذوذ الكروموسومي :

يتضـمن الشـذوذ الكروموسـومي جميـع أنـواع المتغيـرات غيـر الطبيعيـة التـي تظهـر علـى الكروموسـومات والتـي يمكـن مشـاهدتها تحـت المجهـر الضوئي.

يشـمل الشـذوذ الكروموسـومي المتغيـرات العدديـة فـي الكروموسـومات زيـادة أو نقصـان ويـدعى ذلك بـالاختلال العدد Numerical Aberrations فيمـا تـدعى التغيـرات التـي تشمل شـكل الكروموسـوم بـالاختلال التركيبـي

Structural Aberrations. تنشأ هذه الاختلالات نتيجة لحصول أحداث غير طبيعية تترافق مع الانقسامات الخلوية للخلايا الجنسية أو الخلايا الجسمية وتلعب العوامل الوراثية والفسلجية والفيزيائية دوراً في التأثير على الأطوار الانقسامية (جدول 7-2). وقد أعطيت رموز معينة للدلالة على الهيئة الكروموسومية بأنواعها (جدول 7-3).

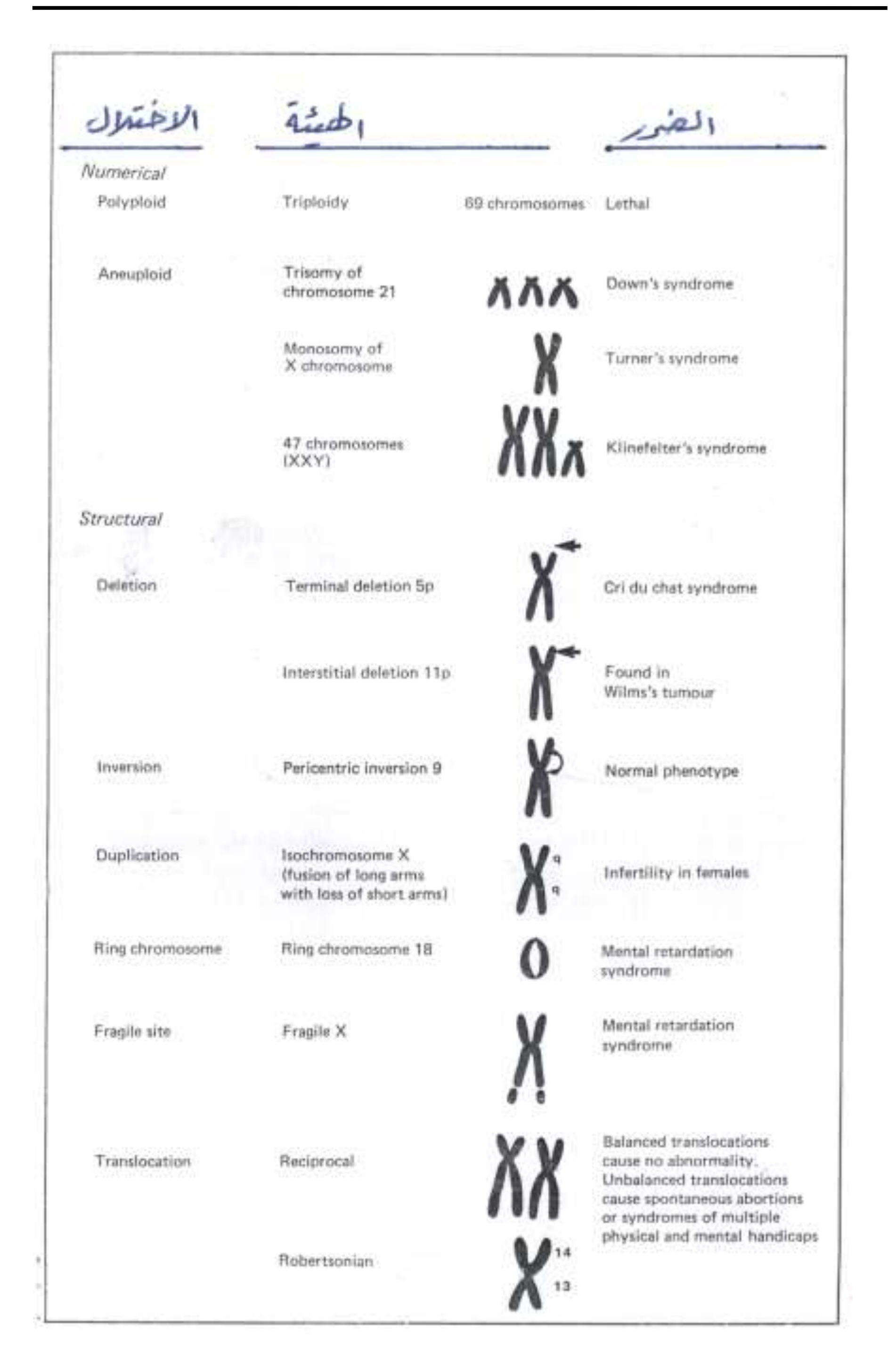
الاختلال الكروموسومي العددي **Numerical Aberrations**:

تحتوي الخلايا الطبيعية البشرية كما هو معروف على 46 كروموسوماً قسمت إلى 23 زوج ويطلق على مثل هذه الخلايا بالخلايا الجسمية بينما يطلق على مثل هذا العدد من الكروموسومات لنفس نوع الخلايا بالخلايا ثنائية المجموعة Diploid. إن جميع خلايا الأنسجة هي ثنائية المجموعة الكروموسومية. تدخل خلايا الأنسجة الجنسية ثنائية المجموعة انقساماً اختزالياً يؤدي في الحالة الطبيعية إلى إنتاج خلايا جنسية تحتوي على نصف العدد من الكروموسومات (23 كروموسوم) وتدعى هيئتها الوراثية بأنها أحادية المجموعة Haploid. أما في الحالات غير الطبيعية مثل فشل تكوين جهاز المغزل أو تضرره جزئياً أو فشل الكروموسومات الشقيقة بالانفصال فإن الانقسام الاختزالي يؤدي إلى إنتاج خلايا جنسية بأعداد غير طبيعية من الكروموسومات. ففي حالة فشل جهاز المغزل كلياً فإن الخلايا الجنسية الناتجة تكون ثنائية المجموعة (46 كروموسوم). ويعتمد ظهور الاختلال العددي هذا على فرصة هذه الخلايا في الدخول في عملية الاخصاب من عدمه. فإذا خصبت هذه الخلايا غير الطبيعية بخلية جنسية أخرى طبيعية فإن البيضة المخصبة ستكون ثلاثية المجموعة (69 كروموسوم Triploid) حيث يكون كل كروموسوم ممثلاً في الخلية ثلاث مرات. يطلق على هذا النوع من الاختلال العددي بالتضاعف الحقيقي Euploid حيث يترافق هذا الاختلال مع الزيادة بالعدد الأحادي. فقد يزيد ثلاث مرات فيكون ثلاثي المجموعة Triploid أو أربعة مرات فيكون رباعي المجموعة Tetraploid وهكذا (شكل 7-8). وقد تنشأ بعض التضاعفات الحقيقية وخصوصاً رباعية المجموعة في مرحلة الانقسامات الخيطية (الميتوزية) الجنينية حيث تفشل بعض الخلايا المنقسمة في توزيع كروموسوماتها مما يؤدي إلى ظهور نسل من الخلايا الرباعية المجموعة وفي مثل هذه الحالة فإننا سنجد خلايا طبيعية الكروموسومات وأخرى

رباعية المجموعة الكروموسومية وهو ما يطلق عليه بالموزائيكية Mosaicism.

ترجع بعض الشذوذات الكروموسومية إلى زيادة أو نقصان في أحد الكروموسومات دون التقيد بالعدد الكلي للمجموعة ويطلق على هذه بالاختلال الكروموسومي غير الحقيقي Aneuploidy وأكثر هذه الاختلالات حدوثاً حالتي نقص كروموسوم Monosomy وزيادة كروموسوم Trisomy.

تنشأ الاختلالات الكروموسومية غير الحقيقية من فشل الكروموسومات الشقيقة أو الكروماتيدات الشقيقة من الانفصال عن بعضها Mon-Disjunction في مرحلة الطور الاستوائي في الانقسام الخلوي (شكل 7-9). ويعزى ذلك إلى التصاق الكروموسومات أو الكروماتيدات الشقيقة مع بعضها بحيث تذهب سوية إلى قطب واحد أو فشل الألياف المغزلية في الارتباط مما يؤدي إلى بقاء الكروموسومات أو الكروماتيدات معاً دون انفصال.



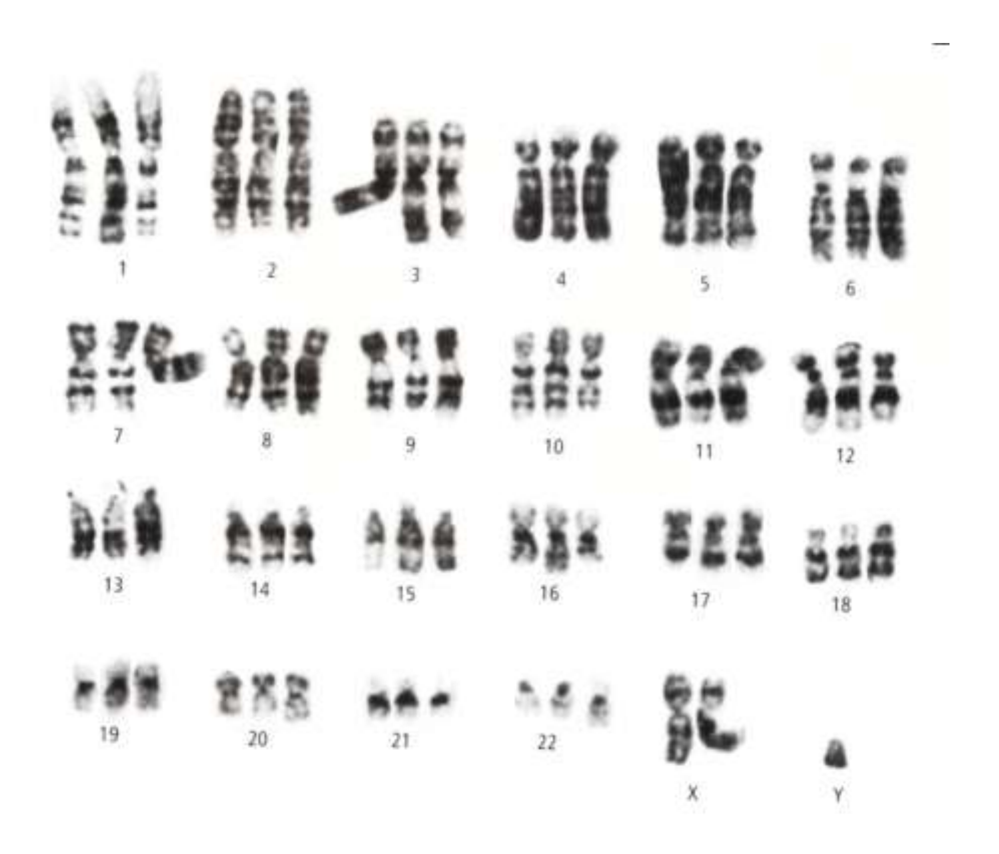
الاختلال	الهيئة		الضرر
Numerical			
Polyploid	Triploidy	69 chromosomes	Lethal
Aneuploid	Trisomy of chromosome 21		Down's syndrome
	Monosomy of X chromosome		Turner's syndrome
	47 chromosomes (XXY)		Klinefelter's syndrome
Structural			
Deletion	Terminal deletion 5p		Cri du chat syndrome
	Interstitial deletion 11p		Found in Wilms's tumour
Inversion	Pericentric inversion 9		Normal phenotype
Duplication	Isochromosome X (fusion of long arms with loss of short arms)	q q	Infertility in females
Ring chromosome	Ring chromosome 18		Mental retardation syndrome
Fragile site	Fragile X		Mental retardation syndrome
Translocation	Reciprocal		Balanced translocations cause no abnormality. Unbalanced translocations cause spontaneous abortions or syndromes of multiple physical and mental handicaps
	Robertsonian	14 13	

جدول 7-2:   أنواع الشذوذ الكروموسومي والتأثير المرضي لها.

جـدول 7-3: الرمـوز المسـتخدمة فـي وصـف هيئـة الكروموسـومات ومعناها.

الرمز	المعنى
A إلى G	المجاميع الكروموسومية
Y , X	كروموسومات الجنس
Q , P	P: الذراع القصير q: الذراع الطويل للكروموسوم
pter	قمة الذراع القصير
q ter	قمة الذراع الطويل
cen	القطعة المركزية Centromere
del	حذف deletion
der	اشتقاق الانتقال الكروموسومي Derivative of rearragement
dic	كروموسوم أو قطعة كروموسومية تحتوي على قطعتين مركزتين
dup	تضاعف Suplication
i	كروموسوم متماثل الأذرع I soch romosome
Ins	أقحام أو إيلاج Insertion
Inv	انقلاب inversion
Mat	أصل أمي (من الأم)
Pat	أصل أبوي (من الأب)
r	حلقي Ring
T	انتقال كروموسومي Translocation
::	كسر وإعادة الإلتحام
/	موازئيكية
+ أو -	+: زيادة في عدد الكروموسومات –: نقص في عدد الكروموسومات
Upd	كروموسومات من أب واحد Uniparental isodisomy
h	كروموسومات من آباء مختلف (أب وأم)
S	تابع Satellite
Recpxt	انتقال متبادل Reciprocal translocation
Robext	انتقال روبرتسوني Robertsonian t

tanxt	انتقال متكرر. Tandem t



شكل 7-8: تجمع كروموسومي لثلاثيات المجموعة Tripoid وهو مثال على الاختلال الكروموسومي العددي الحقيقي.

يؤدي ذلك إلى زيادة في كروموسوم معني في خلية Trisomy ونقصانه في خلية أخرى Monosomy فإذا ما كانت هذه الخلايا جنسية واشتركت في الاخصاب فإن الأجنة الناتجة تحتوي خلاياها على 47 و 45 كروموسوم (جدول 7-4). لقد لوحظ بأن الشذوذ الكروموسومي لدى الإنسان يزداد بازدياد عمر المرأة والتعرض للاشعاعات المؤينة وبعض أنواع الفايروسات والمواد الكيميائية.

كما يذكر بأن هناك بعض الاختلالات الكروموسومية الطبيعية في بعض الخلايا كما هو الحال في الخلايا المولده للصفائح الدموية

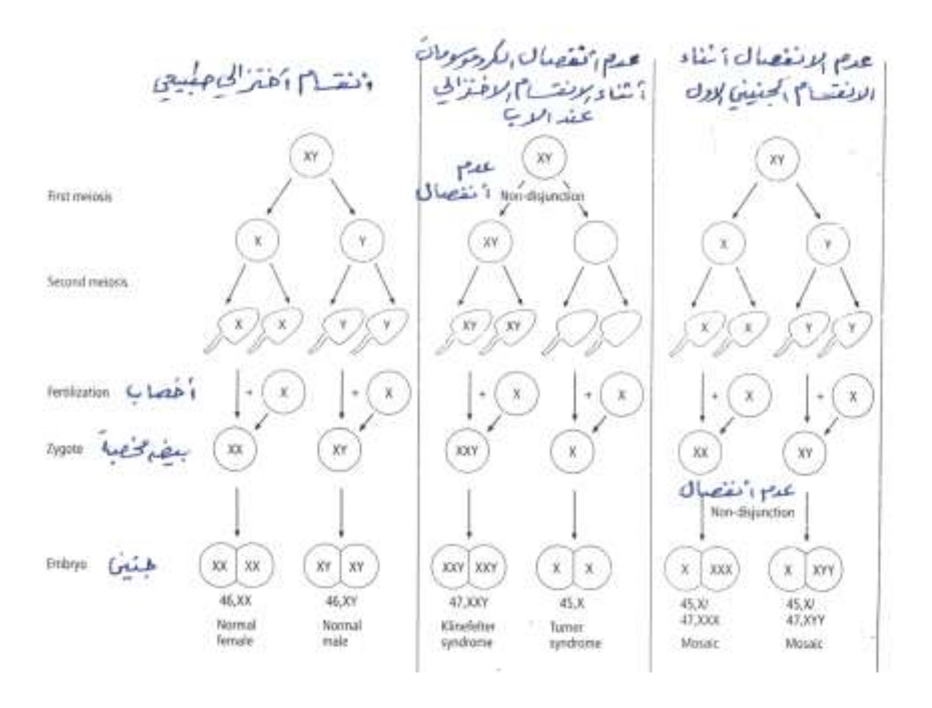
Megakaryocytes التـي تحتـوي علـى 8-16 ضـعف المجموعـة الأحاديـة من الكروموسومات وتنتج هذه من التحام عدة نوى أو وجود عدة نـوى فـي الخلية. كما يمكن مشاهدة المجموعات الرباعيـة فـي الخلايـا الكبديـة الناميـة لتعويض ضرر كمـي فـي الكبـد (فقدان جزء من الكبـد) وربمـا فـي أنسـجة أخرى.

الاختلال الكروموسومي التركيبي **Structural Aberrations:**

تنشـأ هـذه الاختـلالات نتيجـة لحصـول كسـور فـي مواقـع كروموسومية تؤدي إلـى فقدان أجزاء مـن الكروموسـوم أو حصـول التحـام غيـر طبيعـي للأجزاء الكروموسومية أو خلق كروموسومات غير طبيعية الشكل.

تمتلـك العديـد مـن الكروموسـومات مواقعـاً رقيقـة سـهلة الكسـر Frigale وتعتبر هذه المواقع الأكثر تردداً فـي حـدوث الاختلالات التركيبيـة. وعلـى الرغم من أن أغلـب الكسـور التـي تحـدث فـي الكروموسومات يتم لحامهـا فإن دخول عوامل خارجية كالتعرض للاشـعاعات والمـواد الكيميائيـة يمنـع تصليح هذه الكسور.

تؤثر مثل هذه الاختلالات كثيراً في عملية التبادل الوراثي الذي يحصـل أثناء الانقسام الاختزالي ويؤدي ذلك إلى إنتاج خلايا غير طبيعية يمكن في حالة دخولها في الاخصاب إلى تكوين أجنة غير طبيعية.



شكل 7-9: المواقع المحتملة لعدم انفصال الكروموسومات خلال مراحل الانقسام الاختزالي وحصول الاختلال العددي خلالها مقارنة بالانقسام الطبيعي.

الهيئة الوراثية	نوع الاختلال
92.xxyy	Tetraplodiy
69.xxy	Triplody
47.xx,+21	Trisomy 21
47,xy,+18	Trisomy 18
47,xx,+13	Trisomy 13
47,xx,+16	Trisomy 16
47,xxy	Klinefelter syndrome
47,xxx	Trisomy X
45,x	Turner syndrome
49.xxxxy	Variant of klinefelter syndrome

جدول 7-4: أمثلة على الاختلال الكروموسومي العددي.

تقسم الاختلالات التركيبية إلى عدة أنواع وهي :

الانتقـــال الكروموســـومي Chromosomal Translocation, حـــذف Deletion, إضـــافة Duplication, انقـــلاب Inversion, تنـــاظر الأذرع Isochromosomes.

الانتقال الكروموسومي Chromosomal Translocation :

يـتم مثـل هـذا الاخـتلال عنـدما ينتقـل جـزء مـن كروموسـوم ليلـتحم مـع كروموسوم آخر غير متماثل (غير شقيقه) أو شقيقه.

وتتطلـب هـذه العمليـة حصـول أكثـر مـن انكسـارين فـي الكروموسـومين Reciprocal حيث يتبادل الكروموسومين القطـع المكسـور مـن كـل منهمـا ويطلــق علـــى مثـــل هـــذا الانتقـــال بأنـــه انتقـــال متـــوازن Balanced Translocation وتكـون أعراضـه المرضـية معدومـة تقريبـاً علـى الأفـراد الحـاملين للانتقـال إلا أنـه يمكـن أن يظهـر عنـد نسـلهم أنـواع مختلفـة مـن الاخـتلالات الكروموسـومية التـي تـؤدي إلـى أمـراض وتنـاذرات وفـي الحالات الشديدة من الاختلالات يحصل إجهاض للأجنة قبل ولادتها.

أمـا إذا كـان الانتقـال غيـر متـوازن Unblanced فـإن تـأثيره المرضـي يكـون كبيـراً. فـي بعـض الحـالات يحصـل كسـر فـي القطعـة المركزيـة مـن الكروموسوم أو بالقرب منها (يتكرر ذلك كثيراً في الكروموسومات القميـة القطعة المركزية) وبالتالي فإن الانتقال سيشمل الذراع بأكمله ويطلق علـى مثـــل هـــذا الانتقـــال بالانتقـــال الالتحـــامي المركـــزي Centric Fusion Translocation أو الانتقـال الروبرتـي RobertsonianTranslocation مثـل انتقال الذراع الكبير لكروموسومي 21 و 22 (21q22q).

غالباً ما يكون الكسر فوق القطعة المركزية ويؤدي التحـام الأجـزاء إلـى إنتاج كروموسوم بقطعتـين مركـزيتين Dicentric وأخـرى مـن غيـر قطعـة مركزيـة Acentric تضـيع غالبـاً أثنـاء الانقسـام الاختزالـي. كمـا يمكـن أن يحصل الانتقال الالتحامي المركزي بصورة تلقائية أثناء العبور بين مواقـع متماثلة لكروموسومين غير متماثلين. ويعتبر الانتقال الالتحـامي المركـزي الذي يحصل بين كروموسومي 13 و 14 وكروموسومي 21 و 14 أكثـر الأنواع في الإنسان (شكل 10-7).

في بعض الحالا يتعرض كروموسومين لثلاثة كسور في كل منهما ويتبادلان القطعة الوسطية منهما بحيث تقحم القطعة الوسطية الناتجة من تكسر الكروموسوم الأول في الكروموسوم الثاني بينما تقحم القطعة الوسطية من الكروموسوم الثاني في الكروموسوم الأول. وبذلك يتبادلان القطع الناتجة من تكسرهما. يدعى مثل هذا بالانتقال الاقحامي أو الايلاجي Insertional Translocation.

الحذف **Deletion**:

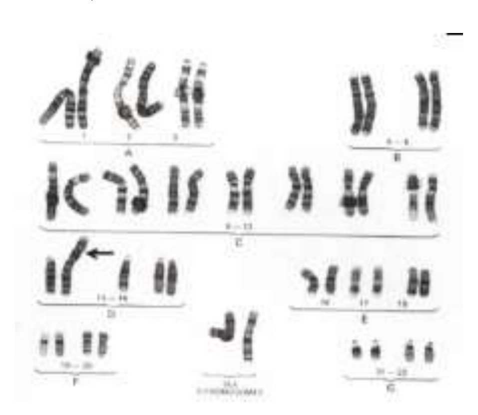
فقدان جزء طرفي أو وسطي من كروموسوم وضياع هذا الجزء. ويعتبر الحذف الكروموسومي شديد التأثير على الأفراد وغالباً ما يكون مميتاً عند حصوله بصوره أصلية متماثلة.

يحصل الحذف في بعض الأحيان من طرفي كروموسوم بحيث تتوفر نهايتين لزجتين وهو ما يؤدي إلى التصاق الأذرع الطرفية مع بعضها محولة الكروموسوم إلى هيئة حلقية ويدعى مثل هذا الكروموسوم بالكروموسوم الحلقي Ring Chromosome.

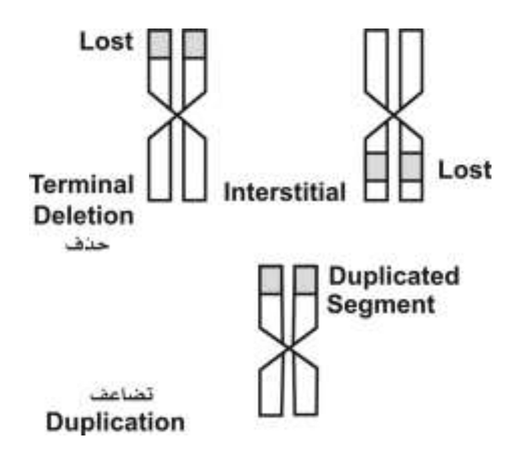
التضاعف **Duplication**:

التضاعف هو وجود موقع متكرر على كروموسوم معين على غير الطبيعي. ينشأ التضاعف بسبب العبور غير المتساوي أثناء الانقسام الاختزالي ويؤدي أيضاً إلى حصول حذف في الكروموسوم الآخر.

كما يمكن أن ينشأ التضاعف نتيجة لوجود انتقال كروموسومي أو إقحام أو تناظر الأذرع عند الآباء. وعلى العموم فإن للتضاعف أعراضاً مرضية معتدلة حتى عند الأبناء (شكل 7-11).



شـكل 7-10: انتقـال كروموسـومي متـوازن التحـامي (روبرتسـوني) شمل كروموسوم 13 و 14 (السهم).



شكل 7-11: أنـواع مـن الاخـتلالات الكروموسـومية التركيبيـة شـملت الحذف والتضاعف .

الانقلاب **Inversion**:

يحدث مثل هذا الخلل نتيجة لحصول انكسـارين فـي كرومسـوم والتفـاف القطعة الوسطية الناتجة عن الانكسار 180 درجة ثم التحامهـا مـرة أخـرى بالكروموسوم. وقد تكون القطعة المنقلبة ذراعـاً كـاملاً دون قطعـة مركزيـة ويدعى الانقلاب عندئذ بالانقلاب اللامركزي Paracentric Inversion. أمـا إذا احتوى الذراع أو القطعة المنقلبة علـى قطعـة مركزيـة فيدعى الانقـلاب عندئذ بالانقلاب حول المركزي Pericentric (شكل 7-12 أ).

لا توجـد آثـار مرضـية لمثـل هـذه الانقلابـات عنـد الأفـراد الحـاملين لهـا ولكن هذه الانقلابـات تعيق عمليـة العبـور أثنـاء الانقسـام الاختزالـي مؤديـة إلى عدم ازدواج الأجزاء البعيدة من الكروماتيدات وهـو مـا قـد يـؤدي إلـى حصول أنواع مختلفة من الاختلالات الكروموسومية.

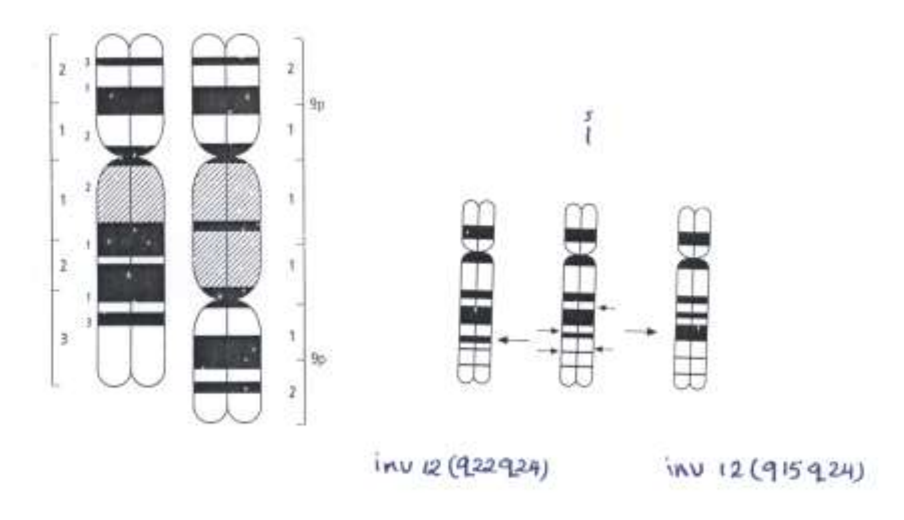
الكروموسومات متناظرة الأذرع **Isochromosomes**:

وهي الكروموسومات التي لها أذرع متشابهة بسبب حصـول حـذف فـي ذراع وتضاعف الذراع الآخر.

تنشأ مثل هذه الكروموسومات نتيجة للانقسام العرضي Transverse Division للقطعة المركزية أثناء الانقسام مما يؤدي إلى فقدان الكروموسومات أذرع كاملة منها وهو ما يدفع إلى تضاعف الذراع المتبقي. وقد تنشأ هذه الكروموسومات نتيجة كسر في ذراع والتحام ذراع نظير بدلها من كروماتيد شقيقة. وأشهر الكروموسومات متناظرة الأذرع هو كروموسوم X متناظر الذراعين (Xq) (شكل 7-12 ب).

القطع المركزية Centric Fragments :

وهي قطع كروموسومية بذراعين قصيرين بسبب فقدان أجزاء من الذراع القصيرة والذراع الطويلة. وتحتوي هذه القطع على قطعة مركزية وهو ما يساعدها على دخول الانقسامات الخلوية. ليس لوجود هذه القطع أية أهمية طبية ولكنها قد تعيق العبور أثناء الانقسام الاختزالي مما يؤدي إلى إنتاج خلايا جنسية غير طبيعية.



شكل 7-12: تخطيط لكروموسومات بشرية يوضح الانقلاب اللامركزي في كروموسوم 12 (نوعان من الانقلاب) (أ) والكروموسوم متناظر الأذرع (أذرع قصيرة) الثنائي القطعة المركزية Dicentric Isochromosome (كروموسوم 9) (ب).

الأمراض المرتبطة بالشذوذ الكروموسومي Chromosomes Disorders

تمثل الأمراض والتشوهات التي ترتبط بشذوذ كروموسومي حوالي 20% إلا أن معظم الأجنة المصابة تفشل في النمو وتجهض تلقائياً بسبب شدة الإصابة ولذلك فإن تكرار الإصابة في هذه الأمراض في الأجنة الكاملة يصل إلى حوالي 0.6%.

وجد من خلال الدراسات السايتولوجية التي أجريت على الأجنة المجهضة بأن حوالي 60% من هذه الأجنة تجهض بصورة مبكرة ويغلب وجود الثلاثيات Trisomy في خلاياها وخصوصاً ثلاثية كروموسوم 16 في حين تجهض الأجنة متأخرة (حوالي 20%) بسبب وجود حالات شذوذ كروموسومي متنوع. كما لم يتم إيجاد دلائل تشير إلى وجود علاقة بين كروموسومي الجنس X و Y والإجهاض حيث لم يلاحظ في الأجنة المجهضة تراكيب كروموسومية جنسية شاذة مثل XXY , XXX أو XYY على عكس الكروموسومات الجسمية التي ظهر أنها ذات تأثير كبير على نمو الأجنة وبقاءها حية.

وفيما يلي وصف لأهم الأمراض والتناذرات المرتبطة بالشذوذ الكروموسومي.

تناذر داون أو ثلاثية كروموسوم 21 (47 +21) 21 Down Syndrome or Trisomy:

يعرف هذا التناذر أيضاً بالعتة المنجولية Mongolian Idicoy وكان أول من وصف هذا التناذر هو الطبيب سيجون Seguin عام 1844 وشخص المرض وعرفت حالته عام 1860 من قبل لنكون داون Langdon Down والذي اقترن اسمه بهذا التناذر (شكل 7-13). يبلغ تكرار هذا التناذر حوالي 700/1 وتجهض 60% من الأجنة قبل اكتمال نموها ولوحظ زيادة تكرار الإصابة بزيادة عمر المرأة. يتميز الأطفال المصابون بالتناذر بالوجه الشبيه بالجنس المنغولي وقصار القامة وتخلف عقلي, جمجمة قصيرة وعريضة وتضخم في جفون العيون, أنف واسع, لسان طويل ذو شق واضح ويد غليظة والإصبع الخامس غليظ, تعرجات جلدية في باطن اليدين والقدمين غير مألوفة مع وجود خط عميق في باطن اليد. إضافة لتفكك منطقة التمفصل مع رسغ القدم. يتصف الأطفال المصابون بهذا التناذر بروح مرحة وسعادة وحساسية عالية إلا أن مهاراتهم العقلية واللغوية تكون منخفضة ويحتاجون تأهيل عالي لتعلم المهارات والنطق والكتابة.

من خلال الفحوصات السايتولوجية للمصابين بتناذر داون وجد بأن 95% منهم يحملون ثلاثة نسخ من كروموسوم 21 (Trisomy 21) وما تبقى منهم يحملون حالات وراثية كروموسومية أخرى.

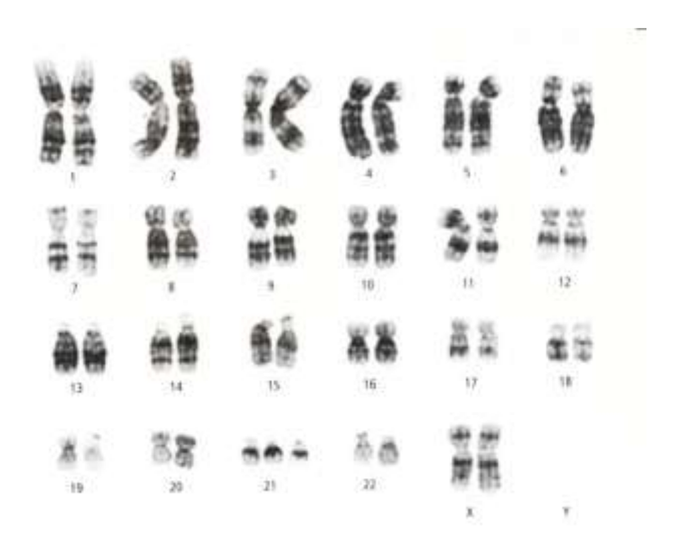
لقد وجد من خلال الفحوصات السابقة أن 80% من ثلاثيات كروموسوم 21 تنشأ عن عدم انفصال زوجي الكروموسوم 21 أثناء الانقسام الاختزالي الأول و 20% أثناء الانقسام الاختزالي الثاني.

كما وجد بأن للأم علاقة في ظهور هذه الثلاثيات بنسبة 85% فيما يمثل الأب 15% من ظهور هذه الحالات. كم لوحظ بأنه على الأقل أن هناك 1% من المصابين لديهم موازئيكية في الهيئة الوراثية لكروموسوم 21 (47.xx or xy + 21/46 .xx or xy).

تظهر ثلاثية كروموسوم 21 نتيجة عدم انفصال زوجي كروموسوم 21 عند أي من الأبوين أثناء الانقسامات الاختزالية التي تحصل في الخصى أو المبايض بحيث ينتقل زوجي الكروموسوم إلى خلية جنسية بينما تحرم الخلية الجنسية الأخرى من هذا الكروموسوم.







شكل 7-13: الملامح المتميزة للأطفال المصابين بثلاثية كروموسوم 21 (تناذر داون) والهيئة الكروموسومية لهم. لاحظ الوجه المنغولي والخط العميق في باطن اليد.

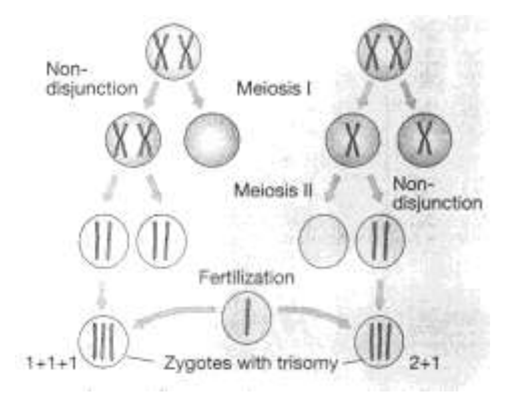
وعند دخول الخلية الجنسية زوجية كروموسوم 21 في الاخصاب مع خلية جنسية طبيعية (تحتوي على فرد واحد من كروموسوم 21) ينشأ زايجوت Zygote (بيضة مخصبة أو لاقحة) يحتوي على ثلاثية كروموسوم 21 التي ستمر انتقالها إلى الخلايا الجديدة الناتجة عن الانقسامات الجنينية (شكل 7-14). تزداد احتمالية ظهور هذه الثلاثية كما غيرها بزيادة عمر الأم (شكل 7-15).

لقد وجد من خلال الفحوصات الكروموسومية أن بعض المصابين بهذا التناذر حصلوا على ثلاثية كروموسوم 21 نتيجة لوجود انتقال كروموسومي لدى أحد الآباء. يشمل هذا الانتقال الذراع الطويلة q لكروموسوم 21 إلى الذراع الطويلة لكروموسوم آخر في الغالب يكون كروموسوم 14 (14q21q) 14t ويؤدي الإخصاب في مثل هذه الحالة إلى إنتاج جنين بثلاثية كروموسوم 21 مصاب بالتناذر (شكل 7-16).

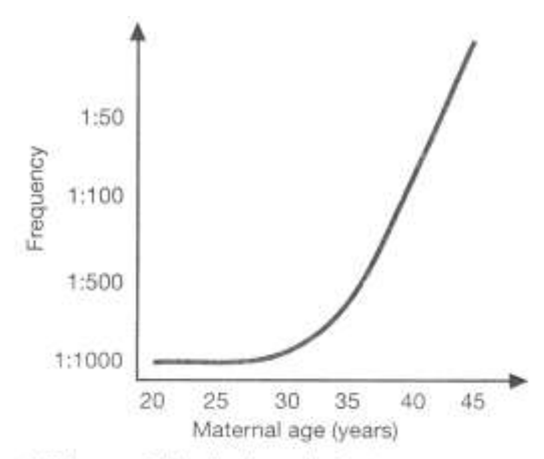
تنشأ ثلاثية كروموسوم 21 الناتجة عن وجود أب حامل للانتقال ستة أنواع من الخلايا الجنسية وأحد هذه الأنواع يحمل زيادة في كروموسوم 21 إضافة للاختلال الكروموسومي 21 + t(14q21q). أما الأب الآخر الطبيعي فيعطي نوع واحد من الخلايا الجنسية الطبيعية. لذلك فإن احتمالية ظهور التناذر حينئذ تبلغ الثلث. إلا أنه وجد بأن النسبة الفعلية للإصابة تصل إلى 11% عندما تكون الأم حاملة للانتقال الكروموسومي و2%

عنـدما يكـون الأب حـاملاً للانتقـال ويعـزى انخفـاض النسـبة عنـد الآبـاء لانعـدام حيويـة الخلايـا الجنسـية غيـر الطبيعيـة ممـا تصـبح فرصـتها بالمشاركة بالإخصاب تكاد تكون منعدمة.

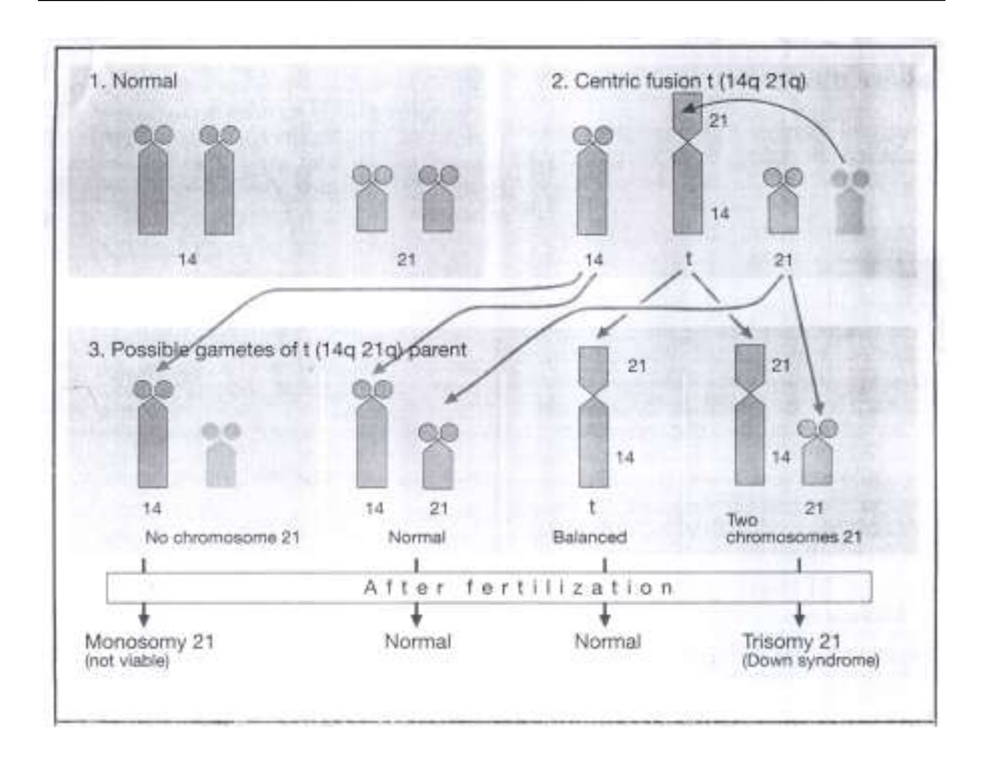
ويذكر بأن الأب الحامل للانتقال يكون طبيعياً بأعراض خفيفة جداً.



شكل 7-14: آلية ظهور ثلاثيـة كروموسوم 21. يلاحظ عدم انفصـال زوج كروموسـوم 21 خـلال مراحـل الانقسـام الاختزالـي وتجمعهـا بعـد الإخصاب بخلية جنسية طبيعية على هيئة ثلاثية.



شكل 7-15: ارتفاع احتمالية الثلاثيات وخصوصاً ثلاثيـة كروموسوم 21 بزيادة عمر الأم.



شكل 7-16: آلية ظهور ثلاثية كروموسوم 21 عند وجود أب حامل للانتقال الكروموسومي t(14q21q) بين كروموسومي 21 و 14 .

تناذر تيرز (45.-X) Turner Syndrome:

يصيب هذا التناذر الإناث فقط لأنه يرتبط مع فقدان في كروموسوم X غالباً. اكتشف هذا التناذر عام 1938 على يد الطبيب H,H.Turner وسمي باسمه. يتراوح تكرار هذا التناذر حوالي 5000/1 ويحدث الإجهاض التلقائي في 96% من الأجنة لهذا الخلل.

يمكن تشخيص الأطفال حديثي الولادة المصابون بالتناذر بوجود رقبة عريضة ذات طيات Redundant Neck وعقد لمفاوية محيطية خصوصاً عند القدمين (شكل 7-17).

أم الإناث البالغة المصابة فتتميز بأنها تبدو طبيعية من ناحية الصفات الجنسية الثانوية والأولية ولكنها قصيرة الطول وذات رقبة بطيات جلدية Weebed Neck وصدر درعي عالي وآذنان منخفضتان وحلمات الثدي متباعدة. الأثدية غير نامية بصورة كاملة وكذلك الرحم والمبايض على

هيئة شرائط ليفية ضامرة. تكون الإناث المصابة بالتناذر عادة عقيمة ونادراً ما يحصل الحمل (شكل 7-17) تختفي الدورة الشهرية عند المصابات بالتناذر وتعاني أغلب هؤلاء من ارتفاع ضغط الدم بسبب تضيق الشريان الأبهر وأنواع أخرى من الأعراض.

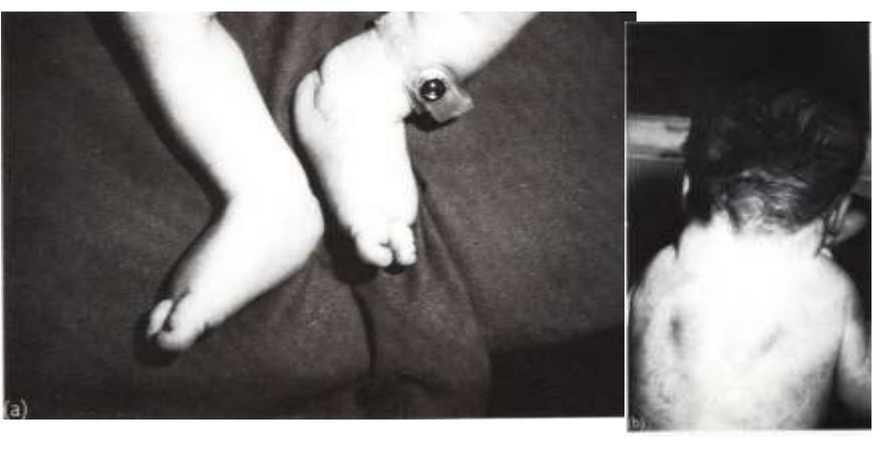
يحدث هذا التناذر في الغالب نتيجة فقدان أحد كروموسومي x (45.-x) وقد شخص فقدان كروموسوم X الأبوي في 80% من المصابات بالتناذر ويستبعد أن يكون الأب سبباً في ظهور هذا التناذر (وكذلك الأم طبعاً) لأن الحيوانات المنوية الحاملة لكروموسوم X تكون عادة مشوهة وغير قادرة على الحركة والوصول إلى البويضة. لذلك فإنه يعتقد بأن فقدان كروموسوم X (Monosomy) يحدث بعد الإخصاب وأثناء الانقسامات الجنينية الأولية.

ومما يدعم هذا الاعتقاد هو أن فقدان كروموسوم X لا يمثل إلا 50% من الهيئات الوراثية للمصابات بهذا التناذر. بينما تكون المصابات الأخريات بالتناذر بهيئات وراثية متعددة. فقد شخصت إناث مصابة بالتناذر بهيئة وراثية XXX (X Trisomy) وتكون هذه أكثر طولاً وأقل شذوذاً من المصابات وبالهيئة الوراثية (45.-X) وأكثر أنوثة وأعلى خصوبة.

كما أن هناك عدة حالات لتناذر تيرنز ناتجة عن خلل في الانقسامات الجنينية هناك عدة حالات ذات كروموسوم X وجزء من كروموسوم X الآخر. ففي الحالات التي يفقد فيها الذراع الصغير من كروموسوم X تكون الإناث قصيرة القامة وتحتوي جميع أعراض التناذر الأخرى. أما في الحالات التي يفقد فيها الذراع الطويل من كروموسوم X فتكون الإناث ذات طول اعتيادي وتختفي منهن أغلب أعراض التناذر. وهذا ما يدفع للاعتقاد بأن الذراع القصير لكروموسوم X يحتوي على المورثات التي تتحكم في هذا التناذر.

كما سجلت هيئات وراثية أخرى تسبب هذا التناذر مثل الهيئة الموزائيكية 45.-x 46.xy ووجود الذراع الطويل لكروموسوم y شأنه شأن الذراع القصير لكروموسوم X له علاقة بكبت أعراض هذا التناذر.

كما شخص التناذر في أعراضه لدى بعض الذكور ذوي الهيئة الوراثية الطبيعية (46.Xy) وتتميز الأعراض عندهم بضمور الخصى وعقم وغياب العديد من الصفات الجنسية الثانوية.





شكل 7-17: الأعراض الظاهرية لتناذر تيرز (45.x). الصورة العليا لطفلة مصابة بالتناذر ويلاحظ شكل الرقبة العريضة وذات الطيات وكذلك التورم اللمفاوي في القدم. أما الصورة السفلى فتمثل بالغة مصابة بالتناذر وتلاحظ الرقبة غير الطبيعية والصدر الدرعي وتباعد حلمات الأثدية إضافة للطول القصير للمريضة.

كانت نسب جميع هذه الاختلالات المرتبطة بتناذر تيرز كالتالي:

17% كروموسوم X متناظر الأذرع.

24% موزائيك 45.-x / 46.xx .

7% كروموسوم X حلقي .

2% حذف في الذراع القصير لكروموسوم X.
4% موزائيك x-. 45 / 46.xy.

تناذر كلينفلتر Klinfelter Syndrome (47,xxy):

تنـاذر يصـيب الـذكور ويتـراوح تكراره مـا بـين 4000/1 مـن المواليـد الذكور ويزداد تكرار المرض بزيادة عمر الأم. يتميز المصـابون بالتنـاذر بالأفخاذ الطويلة وضمور في الخصى وشعر الجسم يكون خفيفاً ومتفرقـاً. الذكور المصابة تكون عقيمة وفي 40% من المصـابين تنمو لـديهم الأثديـة Gynecomastia ولا يصـل مسـتوى هرمـون التستوسـتيرون Testosteron عندهم إلى الحد الطبيعي. يصاب 8% من الحـاملين بالتنـاذر بالسكر و 7% بسرطان الثدي (الشكل 7-18).

الفحوصات السايتولوجية لهؤلاء المصـابين بينت وجود كروموسوم X إضافي يبدو على هيئة كتلة كروماتينية في نواة الخلايا الذكرية.

ينشـأ هـذا الشـذوذ الكروموسـومي مـن عـدم انفصـال كروموسـومي X الأمية أثناء الانقسام الاختزالي الأول 36% أو الثـاني 10% ممـا يـؤدي إلـى تكوين بويضة شاذة تحتوي على كروموسومين X(XX) ونتيجة لإخصـابها بحيوان منوي طبيعي يحتوي على كروموسوم y يؤدي إلى تكوين بويضـة مخصبة بهيئة كروموسومية 47,xxy.



شكل 7-18: الشكل المظهري لرجل مصاب بتنـاذ[ر] ويلاحظ مظاهر الرجولة والأنوثة معاً عند المصاب.

إن معظم حالات زيـادة كروموسـوم X ناتجـة عن الا[...] الأب سبباً في ذلك بنسبة 44% حيث يؤدي عدم الانفصا[...] حيوانات منوية بهيئة كروموسومية xy.

كما وجدت بعض الحالات الموزائيكية 46,xy / 47,xxy في هذا التناذر وتكون الأعراض لديهم أقل وأخف تشوهاً من الحالات السابقة.

إضافة لذلك فقد سجلت بعض الهيئات الوراثية الأخرى عند بعض المصابين بهذا التناذر مثل xxxxy , xxyy , xxxyy , xxxy ويصاب أفرادها بتشوهات خلقية وتخلف عقلي.

وتنشأ بعض حالات ظهور تناذر كلينفلتر من عدم انفصال الكروموسومات أثناء الانقسامات الجنينية وبعد الإخصاب.

تناذر مواء القط (Cridu Cat Syndrome (del 5p :

وصف هذا التناذر منذ عام 1963 من قبل ليجون ومساعدوه Lejqunetetal ويسمى بهذا الاسم لتشابه بكاء الأطفال المصابين بالتناذر مع صوت القطط.

يبلغ تكرار هذا التناذر 7000/1 أو أكثر. يتميز الأطفال المصابين بالتناذر بصغر الرأس Microcephaly وعيون متضيقة بعكس اتجاه العيون المنغولية Antimongoloid وفك صغير سفلي وآذان منخفضة Micrognathia إضافة لتخلف عقلي وإعاقة جسمية وتغيرات واضحة في خطوط الكف والقدم. يموت معظم الأطفال المصابين عند الولادة أو في مرحلة الطفولة المبكرة. ينشأ هذا التناذر عن حذف في الذراع الصغير (القصير) لكروموسوم 5 ويرمز له 5P – وتكون الهيئة الوراثية لهم 5P - 46,xx or xy, يظهر التناذر نتيجة وجود انتقال كروموسومي لدى أحد الآباء حيث وجد أن هناك انتقال للذراع القصير لكروموسوم 5 إلى الكروموسوم 15 (t(5P15 ووجود كروموسوم 5 بحذف في ذراعه القصيرة. يؤدي الانقسام الاختزالي لدى الأب الحامل للانتقال الكروموسومي والحذف إلى تكوين خلايا جنسية تمتلك كروموسوم 5 الخالي من الذراع القصيرة. وفي حالة اشتراك هذه الخلايا في الإخصاب ستؤدي إلى ظهور هذا التناذر (شكل 7-19).

الحالة 47,xxx:

تكرار هذه الحالة 1000/1 من الإناث ويزداد التكرار بزيادة عمر الأم. أغلب المصابات بهذه الحالة طبيعيات وأن 12-25% من هؤلاء مصابات بتخلف عقلي بسيط وثلث المصابات قادرات على الإنجاب.

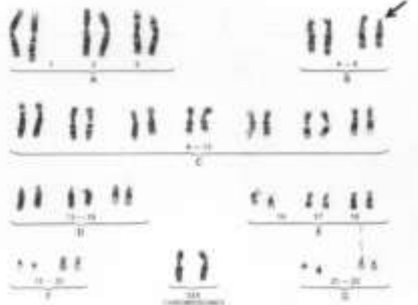
تنشـأ هـذه الحالــة مـن عـدم انفصــال كروموسـومي X أثنــاء الانقســام الإختزالي في المبايض (92%) وإنتاج بويضـات مزدوجـة لكروموسـوم X تصبح ثلاثية بعد إخصابها بحيوان منوي طبيعـي. كمـا سجل 8% من هذه الحالة يرجع إلى خلل في توزيع الكروموسومات عند الآباء.

تناذر وليامز (Williams Syndrome (del 7q11.23:

وصـف هذا التنـاذر فـي العام 1961 من قبل أخصـائي قلـب نيوزلنـدي يدعى وليم H.William حيث لاحظ بـأن هنـاك فئـة من مرضـاه يتشـاركون فـي خصـائص معينـة إضـافة لمشكلاتهم الوعائيـة القلبيـة بـأن لهـم ملامـح وجهيـة متماثلـة حيث يكـون الأنـف مرفوعـاً نحـو الأعلـى والـذقن صـغير ومتخلفين عقلياً بشكل بسيط أو متوسط. ينخفض مستوى الذكاء عند هؤلاء إلا أن قـابليتهم اللغويـة والعاطفيـة عاليـة ويتمعنـون بـروح الخيـال والسـرد الخيالي.

يعـاني الأطفال المصابون بالتنـاذر في مرحلـة الرضـاعة من آلام معويـة وإمســاك وفتــوق Hernias. يتــأخر النمــو عنــد هــؤلاء وتتميــز مشــيتهم باضطراب ويبدون قصار القامة ويشيخون قبل الأوان.





شكل 7-19: طفل مصاب بتناذر مواء القط الناشئ عن حذف في الذراع القصير لكروموسوم 5 (del 5P) كما تلاحظ الهيئة الكروموسومية للمصاب.

يتراوح تكرار ظهور هذا التناذر 20000/1 من المواليد.

ينشأ هذا التناذر عن وجود حذف في قطعة صغيرة من الذراع الطويل لكروموسوم 7(del 7q 11.23) بينما يكون الكروموسوم الآخر طبيعياً يتم توارث هذا الحذف نتيجة لوجود أب حامل لانتقال كروموسومي يتضمن كروموسوم 7(10-15%) ويكون الانتقال متوازناً أو لوجود حذف لدى أحد الأبوين أو نتيجة لظهور طفرات هيكلية جديدة لدى الأبناء وأثناء الانقسامات الجنينية (شكل 7-20).

تناذر أدوردز (Edwards Syndrome (Trisomy 18:

وصف هذا التناذر عام 1960 من قبل الطبيب البريطاني أدوارد ومساعدوه Edwards et al ويبلغ تكرار التناذر 5000/1 من المواليد.

يتصف المصابون بهذا التناذر بالتخلف العقلي ورأس متجه نحو الخلف وصغير الحجم وآذان منخفضة وحنك صغير ووضع متميز للأصابع حيث يكون الإصبع الخامس والثاني فوق باقي الأصابع المنقبضة (شكل 7-21). يعاني المصابون بالتناذر من تشوهات ولادية في القلب والكلى وأعضاء أخرى.

يحصل لمعظم الأجنة التي تحمل ثلاثية كروموسوم 18 إجهاض تلقائي (95%) ويموت 30% من الأحياء منهم خلال أشهر قليلة بعد الولادة بينما يعيش 10% من هؤلاء حتى السنة الأولى.

ينشأ هذا التناذر نتيجة عدم انفصال زوج كروموسوم 18 في الانقسام الاختزالي في المبايض (95%) مما يؤدي إلى إنتاج بويضات ثنائية لكروموسوم 18 تصبح ثلاثية لكروموسوم 18 بعد إخصابها بحيوان منوي طبيعي.

وفي 5% من حالات هذا التناذر يكون الأب سبباً في ظهور هذه الثلاثية. كما سجلت حالات موزائيكية نادرة عند هؤلاء .



شكل 7-20: اله
الحذف 7q 11.23 علـ





شـكل 7-21:   طفـل مصــاب بتنــاذر أدوردز (ثلاثيـة كروموسـوم 18) لاحظ شكل الرأس والوضع المتميز للأصابع.

تنـاذر باتو Patau Syndrome:

وصـف هذا التنـاذر عـام 1960 مـن قبل الطبيـب بـاتو K.Patau وتعتبـر الإصابة بهذا التناذر من الحالات النادرة 20000/1.

يتميـز المصــابون بهـذا التنــاذر مـن الأطفـال حـديثي الـولادة بـأعراض الجبهـة عنـد هـؤلاء المصـابون وتضـيق فـي فتحـات العينـين وفـي الحـالات الشديدة تغيب الأعين تماماً. هذا إضافة لتشوه في شكل الأذنين وشـقوق فـي الشـفة العليـا وسـقف الفـم Lip & Cleft وظهـور أصـابع زائـدة فـي اليـدين والقـدمين Polydictyl وتشـوهات فــي الأعضــاء الداخليـة. تجهـض تلقائيـاً معظــم الأجنــة الحاملــة لهـذه الثلاثيــة مبكـراً ويمـوت 50% مـن المواليـد المصابة بعد شهر من الولادة فيما يموت الآخـرون خـلال سنة بعد الـولادة (شكل 7-22).

تنشـأ ثلاثيـة كروموسـوم 13 نتيجـة عـدم انفصـال زوج كروموسـوم 13 أثنـاء الانقسام الاختزالي لإنتاج البويضـات (65%) ويـؤدي ذلـك إلـى إنتـاج بويضـــات زوجيـــة لكروموســـوم 13 ولا تلبـــث هـــذه أن تصـــبح ثلاثيـــة لكروموسوم 13 بعد إخصابها بحيوانات منوية طبيعية. كما قد يعود سبب وجـود هـذه الثلاثيـة إلــى عـدم انفصــال كروموسـومي 13 فــي الانقســام الاختزالي لإنتاج حيوانات منوية (10%). فيما سجل 20% من الثلاثيـة 13

يعود لوجود إنتقال كروموسومي عند أحد الأبوين و 5% يعود إلى وجود حالة موزائيكية لدى أحد الآباء.

حالة xyy , 47:

يبلغ تكرار هذه الحالة 2000/1 من المواليد الذكور ترتبط هذه الحالة مع السلوك العدواني والإجرامي وتخلف عقلي. المصاب يكون طويل الجسم ذو مظهر طبيعي, شديد الحساسية ويصبح عدائياً بسهولة. يبدأ السلوك العنيف والإجرامي عند المصابين في سن مبكرة.

ينشأ هذا الشذوذ الكروموسومي من إنتاج حيوانات منوية بكروموسومي y(yy) أثناء الانقسام الاختزالي الثاني.

وبالرجوع إلى سجلات النسب لعوائل هؤلاء وجد بأن بعض الآباء كانوا سليمين من الناحية الوراثية لذلك فإنه يعتقد الآن أن بعض هذه الحالات ترجع إلى خلل في توزيع كروموسوم Y أثناء الانقسامات الجنينية الأولية.

ويتوقع أن يكون نسل المصاب بهذه الحالة على الهيئات الوراثية التالية:

Xyy / xx / 2xy / 2xxy

حالة الذكور xx , 46:

حالة نادرة يبلغ تكرارها 20000/1 يبدو أصحابها ذكوراً في الصفات الجنسية الثانوية والأولية (وجود خصى والقضيب) يتصف المصابون بأفخاذ طويلة شبيهة بأفخاذ المصابين بتناذر كلينفلتر وخصى ضامرة وعقم كامل لعدم اكتمال نمو الأعضاء التناسلية لديهم. تنشأ هذه الحالة من وجود انتقال جزء من الذراع الصغير لكروموسوم Y (YP 11.2) إلى الذراع القصير لكروموسوم X(xp) مع وجود كروموسوم X آخر طبيعي. ونتيجة لوجود مورثات تكوين الأعضاء التناسلية الذكرية على الجزء المنتقل من كروموسوم Y لذلك ينمو هؤلاء الأفراد كذكور بهيئة وراثية أنثوية وتحصل عملية الانتقال الكروموسومي أثناء الانقسامات الإختزالية عند الآباء.

حالة ثلاثيات المجاميع Triploidy:

حالة شاذة تؤدي إلى الاسقاط التلقائي للجنين. تتميز الأجنة المصابة بأجسام صغيرة مقارنة بالرأس ومشيمة كبيرة الحجم وتشوهات خلقية متنوعة ومميتة والتحام في الأصابع (شكل 7-23). تنشأ هذه الحالات نتيجة لوجود مجموعة كروموسومية كاملة (N) إضافية بحيث يصبح عدد الكروموسومات في خلايا الأجنة69 كروموسوماً بدلاً من 46. وقد وجد بأن 60% من الحالات بهيئة كروموسومية 69,xxy و 40% بهيئة 69,xxx.

وجد بأن 66% من هذه الحالات يعود إلى اشتراك حيوانين منويين في الإخصاب و 24% نتيجة إخصاب حيوان منوي بضعف عدد الكروموسومات و 10% نتيجة لإخصاب بويضة بضعف عدد الكروموسومات.

تناذر برادر – ويلي (Prader-Willi Syndrome (del15 q11-q13:

تناذر نادر يبلغ تكراره 20000/1 ويؤدي إلى إعاقة عقلية وضمور في الأعضاء التناسلية وانتفاخ في البطن. الوجه يكون مسطحاً مع شفة علوية متضخمة ويدين وقدمين صغيرتين ولكنها طبيعية.

ينشأ هذا التناذر من وجود حذف صغير في الذراع الطويل لكروموسوم 15 del (q11-q13) وقد يعود هذا الحذف لوجود انتقال كروموسومي لدى أحد الأبوين ولم يشخص مثل هذا الانتقال حتى الآن (شكل7-24).

تناذرات أخرى ناتجة عن حذف كروموسومي:

هناك العديد من الشذوذ الكروموسومي المرتبط بحذف جزء من كروموسوم معني كما هو الحال في تناذر أنجلمن (Happy Angelman Syndrome (Puppets الذي ينشأ من حذف في الذراع الطويل لكروموسوم 15 (15q12) وتناذر وولف Wolf Syndrome الناشئ من حذف الذراع القصير لكروموسوم 4(4p-). هذا إضافة إلى تناذرات أخرى يمكن الرجوع إليها في الجدول (7-5) ترتبط جميعها مع حذف صغير Microdeletion في موقع كروموسومي.

كما ترتبط بعض الشذوذات بقطع كروموسومية إضافية غير معروفة االمنشأ ترتبط هذه مع كروموسوم معني ويدعى الكروموسوم عندئذ بالكروموسوم الموسم Marker Chromosome أو الكروموسوم الدليل.

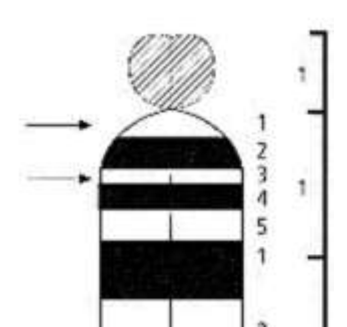


شكل 7-22: طفل مصاب بتناذر باتو (ثلاثية كروموسوم 13).
لاحظ الشق الشفوي الكبير وتشوه الأنف.



شكل 7-23: جنين غير مكتمل حامل لمجاميع ثلاثية Triploidy بهيئة كروموسومية 69,xxy.

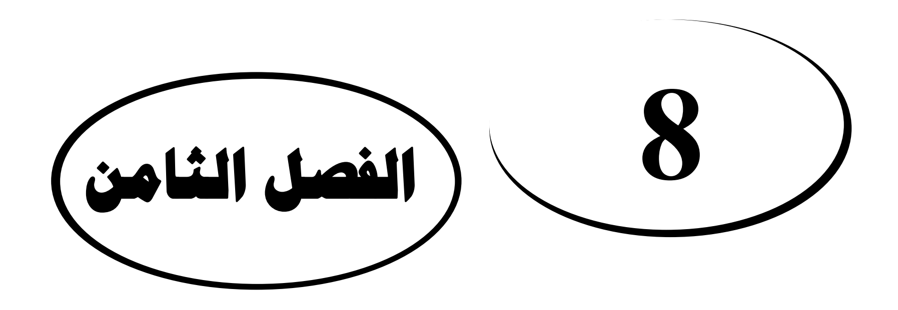
لاحظ حجم الرأس غير الطبيعي مقارنة بالجذع وكذلك الأصابع الملتحمة.



شكل 7-24: تخطيط للحذف (q11-q13) del 15 على كروموسوم 15 والذي يترافق معه تناذر برادر – ويلي.

موقع الحذف	التناذر
20p	Alagille syndrome
16p	Alpha-thalassaemaia with mental handicap (p.132)
15q11-12	Angelman syndrome (p.126)
22q11	Digeorge syndrome (p.192)
8q24	Langer-Giedion syndrome
17q13	Miller-Dieker lissencphlay
15q11-12	Prader-Willi syndrome (p.126)
13q14	Retinoblastoma (p.175)
16p	Rubinstein-Taybi (p.193)
7q	Williams syndrome (p.194)
11p13	Wilms tumour-aniridia syndrome (WAGR) p.176)

جدول 7-5: أنواع مختلفة من التناذرات والأمراض الناشئة عن وجود حذف صغير Microdeletion.


8
الفصل الثامن


الفصل الثامن
الوراثة الجزيئية الطبية
Medical Molecular Genetics

الفصل الثامن

الوراثة الجزيئية الطبية

Medical Molecular Genetics

مقدمة:

إن التقدم التكنولوجي الهائل الذي يحدث الآن شمل العديد من نواحي العلوم ومنها الوراثة حيث أدى ذلك إلى استنباط طريق وأدوات جديدة لدراسة التفاصيل الجزيئية للعمليات الوراثية وإيجاد العلاقات بينهما.

وقد ظهر هذا في الوراثة جلياً من خلال ظهور اكتشاف التركيب الداخلي للكثير من المورثات تحديد تتابع نيوكليوتيداتها وخرائطها الأنزيمية بل وتحديد حتى أعداد محاورها وكذلك عزل هذه المورثات وحتى عزل أجزاء منها وهو ما جعل من عملية التعرف على المتغيرات التي تحصل لسبب ما في المورثات ممكنة.

وتستخدم المختبرات العالمية اليوم العديد من المجسات للتعرف على طبيعة هذه المتغيرات وتحديد إليه حصولها وكيفية تأثيرها على العمليات الفسلجية وبالتالي تحديد الأسباب الجزيئية لظهور الأمراض والتناذرات.

ونحن في هذا الفصل سنقدم توضيحاً للمعلومات الجزيئية حول المورثات والطرق الجزيئية المستخدمة في دراسة المتغيرات التركيبية للمورثات والكروموسومات وعلاقتها مع الأمراض والتناذرات التي يعاني منها الكثير من الناس.

التركيب الجزيئي للمورثات:

تمثل المورثات Genes الأساس في التحليل الجزيئي للأمراض الوراثية وقبل الخوض في تفاصيل المورثات وعملها فإنه من الفائدة التعرف أولاً على الأحماض النووية كونها تمثل الأساس التركيبي والوظيفي للمورثات. الأحماض النووية هي بوليمرات مؤلفة من وحدات متكررة تدعى بالنيوكليوتيدات. ترتبط النيوكليوتيدات فيما بينها بأواصر كيميائية مؤلفة شريط طويل هو الحامض النووي.

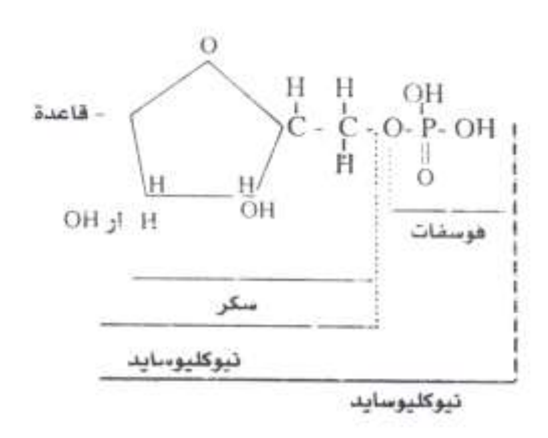
هناك نوعان من الأحماض النووية هما: الـ DNA والـ RNA يمثل الـ DNA المادة الوراثية في الخلية وهو المادة الأساسية للمورثات بينما يمثل الـ RNA ثلاثة أنواع من الجزيئات هي الـ mRNA المرسال والـ tRNA الناقل والـ rRNA الريبوسومي وتتشابه هذه الجزيئات بالتركيب العام إلا أنها تختلف في الوظيفة.

تتـألف الوحـدة الأساسـية (النيوكليوتيـد) للأحمـاض النوويـة مـن سـكر خماســي (بنتـوز) تـرتبط مـع ذرة الكـاربون الخامســة منــه مـع مجموعـة فوسفات وتدعى هذه بالنهايـة الخامسـة 5-end بينمـا تـرتبط ذرة الكـاربون الأولى مع قاعدة نتروجينية (شكل 8-1).

هناك مجموعتان من القواعد النتروجينيـة فـي الأحمـاض النوويـة وهمـا البيرميدنيات Pyrimidins مؤلفـة مـن حلقـة سداسـية مفـردة وتمثـل قواعـد الثايميدين هذه المجموهة (T) واليوراسيل (U) والسايتوسين (C).

أمـا المجموعـة الثانيـة مـن القواعـد فهـي مجموعـة البيوريـنـات Purins المؤلفة من حلقة سداسية مرتبطـة بحلقة خماسية. وتضم هذه المجموعة قواعد الأدنين (A) والجوانين (G) (شكل 8-2). أما سكر البنتوز الخماسي الـذي يـدخل فـي تركيـب النيوكليوتيـدات فهـو نوعـان وهمـا سـكر البنتـوز الخماسي منقوص الأوكسجين الموجود في نيوكليوتيدات الـ DNA والذي يحتوي على مجموعة هيدروكسيل واحدة ترتبط مع ذرة الكاربون الثالثة للسكر. والنوع الثـاني هو سكر البنتـوز الخماسـي الريبـوزي الموجـود فـي نيوكليوتيدات الـ DNA ويحتوي على مجموعتي هيدروكسيل ترتبطـان مـع ذرتـي الكاربون الثانية والثالثة للسكر.

ترتبط نيوكليوتيدات الـ DNA علـى هيئـة سلسلتين أو شـريطين تـرتبط السلسـلتين مـع بعضـهما بصـورة متعاكسـة الاتجـاه بحيـث تنتهـي إحـداهما بالنهاية الخامسة بينما تنتهي الثانيـة بالنهايـة والثالثـة (نهايـة الهيدروكسيل) وتبعـاً لـذلك يـرتبط الجـوانين مـع السايتوسـين والأدنـين مـع الثـايمين داخليـاً (شكل 8-3) و (شكل 8-4).



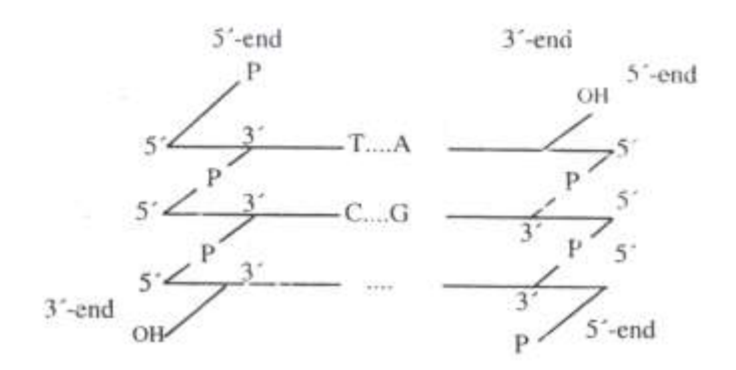
شكل 8-1: تركيب النيوكليوتيد.

ثايمين أدنين

جوانين سايتوسين

قواعد البايريميدين قواعد البيورين

شـكل 8-2: القواعـد النيتروجينيـة فـي الحـامض النـووي الريبـوزي منقوص الأوكسجين.



شـكل 8-3: الإتجاهـات المتعاكسـة لأشـرطة الحـامض النـووي حيـث تمثل أواصر الفوسفور ثنائي الأستر العمود الفقري للأشرطة بينمـا تمثـل مجموعة 5-P المجموعة النهائية لكل شريط.

شكل 8-4: ارتباط أزواج القواعد النايتروجينية في سلسلتي الحامض النووية DNA.

أما في الـ RNA فإن النيوكليوتيدات ترتبط مع بعضها لتأليف سلسلة مفردة تحتوي عل قواعد U , A , C , G.

ويذكربأن ترددات الـ m RNA تقرأ على هيئة ثلاثية تدعى بالشفرة الوراثية حيث أن كل ثلاثة نيوكليوتيدات تمثل شفرة وراثية تبدأ عادة بشفرة الميثونين وتنتهي بشفرة غلق تمتلك الخلية الجسدية جزيئة الـ DNA يبلغ طولها حوالي 6 × q10 زوج قاعدي وهو ما يساوي حوالي 2 ملم طولاً. إن جزيئة الـ DNA هذه أكبر بكثير من حجم الخلية لذلك فإنها تلتف بطريقة خاصة حول بروتينات هستونية وتدعى هذه بوحدات النيوكليوسومات. تتوزع أجزاء الـ Nucleosomes على مجموعة كاملة من الأجسام الطولية DNA التي لا تشاهد إلا عند دخول الخلية المرحلة التمهيدية في الانقسام الخلوي. تدعى هذه الأجسام الطولية بالكروموسومات Chromosomes ويبلغ عددها في الخلايا الجسدية 46 كروموسوماً وتصف ذلك العدد في الخلايا الجنسية.

تمثل المورثات مساحات معينة من الـ DNA ويبلغ معدل حجم المورث الواحد ما بين 500 – أكثر من 3000 زوج قاعدي – ويبلغ عدد المورثات العاملة أو التركيبية Structural Genes ما بين 50.000 – 100.000 زوج وهي تمثل حوالي 5% من حجم ترددات الـ DNA بينما يمثل ما تبقى من الترددات مواقع غير معروفة باستثناء حوالي 35% من

الترددات التي تتكرر على طول الـ DNA التابعي Satellite DNA. إن عدد تكرار هذا الـ DNA يختلف من فرد إلى آخر ولذلك فإنه يمثل عنصر اختلاف بين الأفراد ويدعى Variable Number of Tandem Repeats (UNTRs) ويبلغ حجم هذه الترددات التابعية ما بين زوج إلى 30 زوج قاعدي.

وتعتبر هذه الترددات الأساس الذي تعتمد عليه تقنية بصحة الـ DNA DNA Fingerprints. يتم توارث هذه الترددات وتعطي أحجام مختلفة تكون خاصة بكل فرد.

مواقع المورثات وعملها:

كما قلنا سابقاً فإن المورثات هي ترددات من النيوكليوتيدات ضمن ترددات الـ DNA. ونظراً لتوزع المادة الوراثية على مجموعة كاملة من الكروموسومات فإن المورثات تتوزع أيضاً على هذه الكروموسومات ونظراً لاختلاف أطوال الكروموسومات فإن عدد المورثات التي تحملها مختلف.

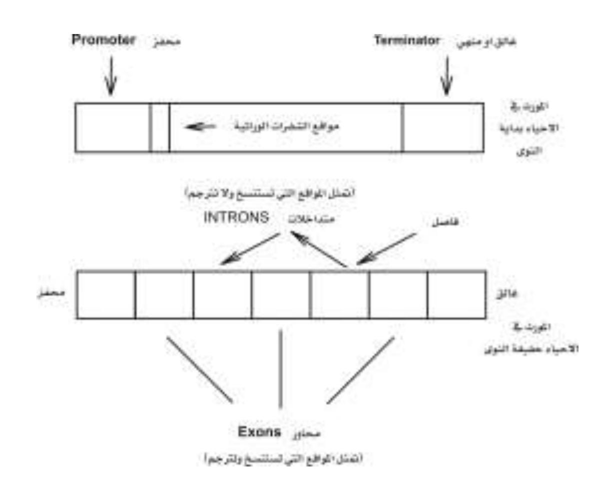
يتألف المورث من عدد من المناطق مختلفة الوظيفة إذ تحاط المناطق الوسيطة من المورث تحتوي على المحفز Promoter الذي يعمل على تشغيل المورث ويحمل شفرة خاصة تسهل تعرف أنزيمات استنساخ الـ mRNA والاستقرار عليه لبدء عملية بناء الـ mRNA تتألف من مناطق الشفرة الخاصة بأنزيم بلمرة وبناء الـ mRNA من ترددات سبعة نيوكليوتيدات يتوالى فيها الثايمين مع الأدنين وتدعى هذه الترددات بترددات تاتا TATA أو صندوق بريبنو أو صندوق هوجنكز. كما يحتوي المحفز على ترددات قصيرة ذات أهمية في تنظيم الاستنساخ (شكل 8-5).

أما في النهاية الثالثة للمورث فتقع منطقة المنهي أو الغالق Terminator المسؤولة عن إيقاف عمل المورث والاستنساخ حصراً. تعمل منطقة الغالق بعدة آليات منها وجود شفرات غلق وهي UAA أو UAG أو UGA أو أن منطقة الغلق مؤلفة من أوتار مؤلفة من الجوانين والسايتوسين متبوعة بثايمين وأدنين ... GCTA.

أما المنطقة الوسيطة من المورث فإنها تتألف من مناطق مشفرة تدعى بالمحاور Exons ومناطق غير مشفرة تدعى بالمتداخلات Introns. تترتب هذه بطريقة متوالية إذ يتبع كل محور متداخل وكل متداخل يتبع بمحور.

ومـن الجـدير بالـذكر بـأن جميـع الشـفرات الوراثيـة القابلـة للترجمـة موجودة في المحاور بينما لا تحتوي المتداخلات أية شفرات.

يـتم استنسـاخ جزيئـات mRNA بعـد اسـتقرار أنـزيم بلمـره الحـامض النووي الريبوزي RNA POL II على نهاية منطقة صندوق تاتا في المحفر حيـث يقـوم عنـدها الأنـزيم ببنـاء جزيئـة mRNA مـن الشـريط الحسـاس للمورث عن طريق إضافة نيوكليوتيدات مكملة الواحد بعد الآخر حتى الوصول إلى منطقة الغالق حيث تتوقف عملة الاستنساخ وينفصل شريط الـ mRNA ثم يتم بعد ذلك التخلص من الترددات غير المشفرة. ويتم بعدها تحوير نهايات شريط الحامض النووي بإضافة قبعة جوانسين في النهاية الثالثة (شكل 8-6). بعد اكتمال تحوير الحامض النووي المرسال يذهب إلى الريبوسومات لأجل ترجمة الشفرات الوراثية وبناء سلاسل عديد الببتيد بمساعدة جزيئات tRNA و rRNA وعدد من الأنزيمات ويذكر بأن جزيئة الحامض النووي mRNA تحتوي على عشرين شفرة وراثية تمثل عشرون حامضاً أمينياً إضافة لشفرة غلق عملية الترجمة (شكل 8-7 وجدول 8-1). إن حصول طفرة وراثية أو حذف أو زيادة في الشفرات الوراثية يؤدي إلى تغيير حامض أميني بدلاً من الطبيعي بسبب تغير الشفرة الوراثية أو إضافة أو فقدان حامض أميني بدلاً من الطبيعي بسبب تغير الشفرة الوراثية أو إضافة أو فقدان حامض أميني في موقع معين من سلسلة عديد الببتيد الناتج وهو ما يؤدي إلى إنتاج أنواع مشوهة غير طبيعية من البروتينات أو عدم إنتاجها نهائياً وهو ما يسبب أنواع مختلفة من الأمراض والتناذرات.



شكل 8-5:   تخطيط لمورث يوضح المناطق المتعددة.

الشفرة الوراثية	الحامض الأميني	
GCA, GCC, GCG,GCU	Alanine	ala
AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGU	Arginine	arg
GAC, GAU	Aspartic acid	asp
AAC, AAU	Aparagine	asn
UGC, UGU	Cysteine	Cys
GAA, GAG	Glutamic acid	glu
CAA, CAG	Glutamine	gln
GGA, GGC, GCG, GGU	Glycine	gly
CAC, CAU	Histidine	his
AUA, AUC, AUU	Isoleucine	ile
UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU	Leucine	leu
AAA, AAG	Lysine	lvs
AUG	Methionine	met
UUC, UUU	Phenylalanine	phe
CCA, CCC, CCG, CCU	Proline	pro
AGC, AGU, UCA, UCC, UCG, UCU	Serine	ser
ACA, ACC, ACG, ACU	Threonine	thr
UGG	Tryptophan	trp
UAC, UAU	Tyrosine	tyr
GUA, GUC, GUG, GUU	Valine	val
UAA, UAG, UGA	Stop	

جدول 8-1: الشفرات الوراثية وما يقابلها من الأحماض النووية.

التقنيات الجزيئية المستخدمة في تحليل المورثات:

يستخدم العديد من التقنيات الجزيئية التي تستهدف الحصول على جواب مؤكد حول حقيقة ارتباط مرض ما بمورث ما وتشمل هذه التقنيات:

1- استخلاص الحامض النووي DNA.

2- تقطيع الـ DNA بالأنزيمات القاطعة.

3- فصل قطع الـ DNA بالأجهزة الكهربائية أو بالطرد المركزي .

4- نقل قطع الـ DNA إلى أغشية (بصمة ساوثرن).

5- تحديد موقع مورث معني بالتهجين.

6- قراءة تسلسل تردد نيوكليوتيدات المورث المطلوب فحصه.

7- تضخيم الحامض النووي Polymerase Chain Reaction (PCR)

استخلاص الحامض النووي DNA:

هناك عدة طرق تستخدم الآن لفصل وتنقية الأحماض النووية إلا أن أهمها هي طريقة الفصل بالفينول والكلوروفورم وطريقة الفصل بالطرد المركزي الفائق.

الطرق العامة لفصل الحامض النووي :

أولاً : طريقة الفينول كلوروفورم إيزوأميل:

تعتمد هذه الطريقة على قدرة الفينول والكلوروفورم على مسخ البروتينات الموجودة في النموذج وعزلها عن الأحماض النووية. كما أن لها القدرة على تثبيط عمل الأنزيمات المحطمة للحامض النووي DNA وكذلك تثبيط البروتينات وبالتالي الحفاظ على الأحماض النووية من التدمير. ويزيد الأيزوبروبانول من كفاءة الكلوروفورم في التخلص من البروتينات.

إن الفينول السائل المجهز من قبل الشركات العالمية يحتوي على العديد من المعادن الثقيلة والشوائب والتي من الممكن أن تتآصر مع الأحماض النووية وخصوصاً الحامض النووي DNA مما يعرقل عمل العديد من الأنزيمات التي من الممكن استخدامها فيما بعد. إضافة إلى ذلك فإن للفينول قدرة كبيرة على الإشباع بالماء. لذلك فإنه لا بد من إجراء عملية غسيل لسائل الفينول قبل استخدامه. تتم هذه العملية في كابينة كيميائية هود (Hood) وذلك بوضع قنينة الفينول في حمام مائي بدرجة حرارة 65م^{o} لمدة ساعة قبل إجراء الغسيل وإضافة 0.1 ملغم من مادة 8-Hydroxy Quinoline, تعمل هذه المادة على تلوين الفينول باللون الأصفر إضافة إلى قدرتها الكبيرة على التآصر مع المعادن الثقيلة الموجودة في الفينول ويتم التخلص منها عند إجراء عملية الغسيل. يستخدم محلول STE في عملية الغسيل وهو محلول ملحي ضعيف (STE:O M NACL 0.05M

(Tris-Hc1,0.01M EDTA PH 8 يضـاف 5.0. سم^3 من محلـول الغسـيل STE لكـل 100 سم^3 فينـول ويمـزج جيـداً بواسـطة الخلـط بواسـطة ماصـة Pipet زجاجيـة ويتـرك لـدقيقتين حتـى انفصـال طبقـة الغسـيل عـن الفينـول (طبقة الغسيل علوية دائماً) حيث تصبح طبقة الغسيل بيضـاء عكـرة تمـزج هذه الطبقـة مـرة أخـرى وتتـرك الطبقـات لتنفصـل مـرة ثانيـة وتعـاد عمليـة الخلط أو المزج لمرة ثالثة تزال بعدها طبقة الغسيل ويضـاف 50 سـم^3 مـن محلول الغسيل إلى قنينة الفينول (على اعتبار أن قنينة الفينول تحتـوي علـى 100 سم^3 فينول) وتعاد عمليـة الغسـيل كمـا سـبق لعـدة مـرات حتـى تصـبح طبقـة محلـول الغسـيل رائقـة تمامـاً, عنـدها تغطـي طبقـة الفينـول بطبقـة مـن محلـول الغسـيل لمنـع تأكسـد الفينـول مـع الهـواء ويحفـظ الفينـول فـي قنـان صـغيرة معتمـة (20 – 40 سـم^3) ويخـزن بدرجـة حـرارة 20م^o. لأجـل استخلاص وفصـل الحـامض النـووي DNA يخلـط حجـم مسـاوٍ مـن الفينـول مـع محلـول الخلايـا المحطمـة فـي أنبوبـة زجاجيـة صـلبة ومعقمـة (أنبوبـة الطرد المركزي), يمزج المحلول جيداً وبهـدوء عـن طريـق غلـق الأنبوبـة بواسطة ورق برافين أو قطعة مطاط وتقليبها إلـى الأعلـى والأسـفل بهـدوء لعدة مرات حتى امتزاج المحلول جيداً.

توضـع الأنبوبـة فـي حمـام مـائي بدرجـة حـرارة 65م^o لـدقيقتين أو ثـلاث تعاد عملية المزج مرة أخـرى وهكـذا لـثلاث أو أربـع مـرات, تفصـل بعـدها طبقـة الحـامض النـووي DAN عـن طريـق الطـرد المركـزي بقـوة 5000 دورة في الدقيقة لمدة خمس دقائق ينفصل المحلول بعدها إلى ثلاث طبقـات علوية تمثل الحامض النووي DNA وسفلية تمثل طبقة الفينول. بينما يتكتل البروتين كطبقة سميكة بيضاء اللون لزجة بينهما.

إن محلـول الحـامض DNA يكـون لزجـاً فـي هـذه المرحلـة (خصوصـاً DNA الأحياء حقيقة النوى لضخامته) لذلك يتوجب فصل طبقـة الحـامض النـووي العلويـة بواسـطة ماصـة باسـتور معقمـة وبحـذر شـديد لأجـل عـدم سحب طبقة البروتين معها. ينقل سائل الحامض النووي DNA إلـى أنبوبـة نظيفة معقمة ثانية ويضاف حجم مساوٍ من الكلوروفورم: أيزواميل بنسـبة 1:24 ويمـزج جيـداً كمـا سـبق وتفصـل طبقـة الحـامض النـووي DNA بواسطة الطرد المركزي. تفصل طبقة الحامض النووي وتنقل إلـى أنبوبـة ثالثة ويضاف حجم مساوٍ من الكلوروفورم وتعاد عمليـة المـزج مـرة ثالثـة. وكما سبق يفصل الحامض النووي DNA بعدها بواسطة الطـرد المركـزي تنقـل طبقـة الحـامض النـووي بعدئـذ إلـى أنبوبـة رابعـة ويضـاف 10

مـايكروليتر مـن محلـول ملـح الطعـام NACL ذي عبـارة 2.5M ويمـزج المحلـول جيداً ثـم يضـاف حجمـان ونصـف مـن كحـول الإيثـانول المطلـق المثلج (20-مº) ويمزج المحلول بعد ذلك بهدوء شديد عن طريق التقليب إلى الأسفل والأعلى حيث يظهر الحـامض النـووي DNA كخيوط بيضـاء. تخـزن بعـد ذلـك الأنبوبـة بدرجـة حـرارة (2-مº لمـدة سـاعتين ثـم يطـرد المحلـول مركزيـاً بقـوة 2000-5000 دورة فـي الدقيقـة لمـدة خمـس دقـائق لأجـل ترسـيب جميـع خيـوط الحـامض النـووي. تـزال طبقـة الكحـول مـن الأنبوبـة ويجفـف نمـوذج الحـامض النـووي بدرجـة حـرارة 37مº ثـم يـذاب بواسطة 200 مـايكروليتر من المـاء الملقط المعقم أو محلـول TE (0.01 MTRIS.CL,0.5 M EDTA.PH7.0) وينقل المحلـول إلـى أنبوبـة صـغيرة الحجم ويخزن بدرجة حرارة 20-مº حتى استخدامه. تـؤدي إضـافة محلـول ملح الطعام إلى زيادة كفاءة الكحول في سحب الماء من الحـامض النـووي. كمـا يمكـن استخدام كحـول الأيزوبوبـانول بـدلاً مـن الإيثـانول المطلـق فـي ترسيب الحامض النووي ويضـاف بنسبة مساوية لحجم محلـول الحـامض النووي (الشكل 8-8).

ثانياً: طريقة الطرد المركزي الفائق مع ملح كلوريد السيزيوم:

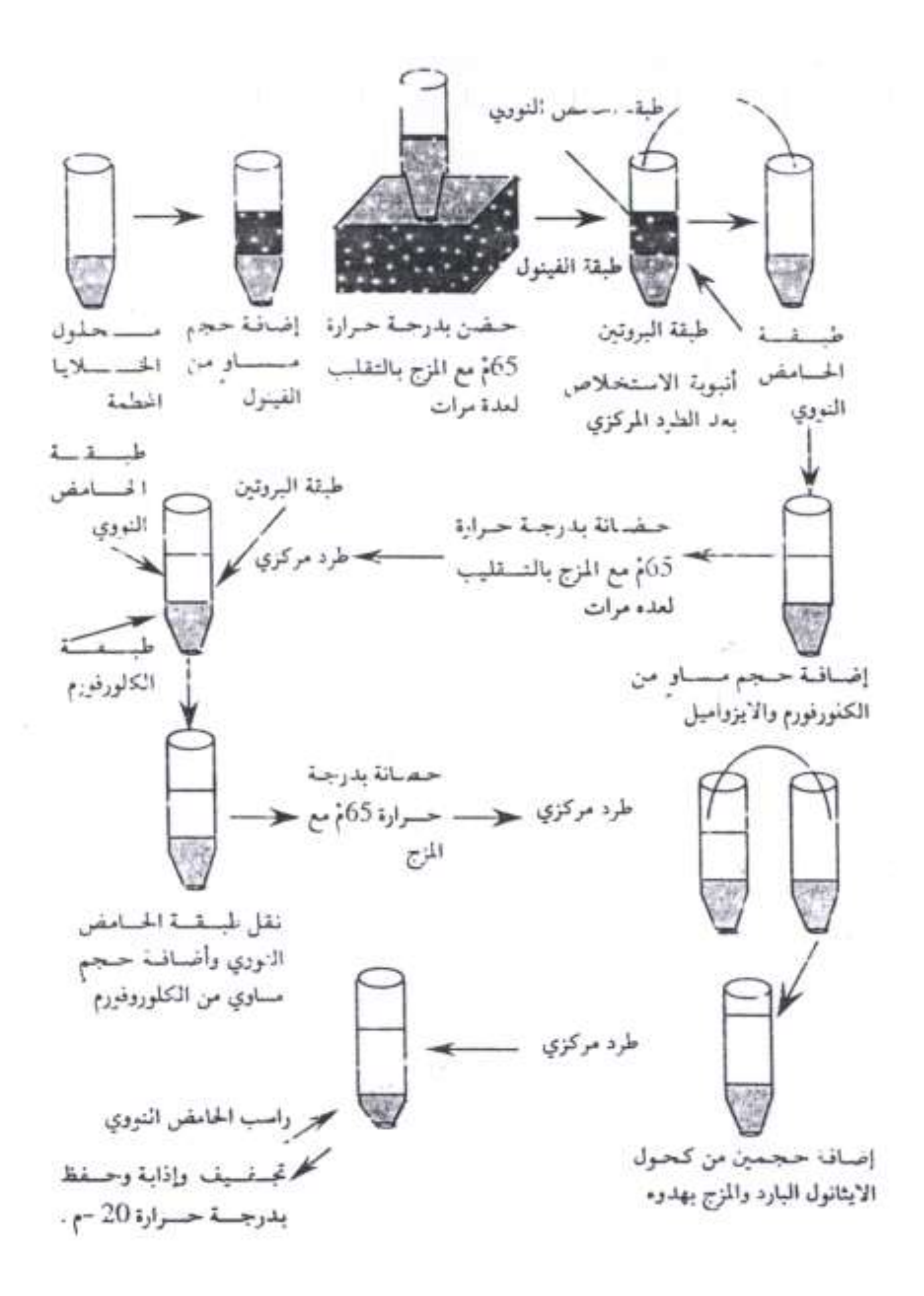
يعتبر الطرد المركزي الفائق Ultracentrifugation من الطرق الشـائعة الاستخدام فـي فصـل الجزيئـات العضـوية والبايولوجيـة. يتعـرض الجسـيم المتحرك أثنـاء الطـرد المركـزي فـي دائـرة نصـف قطرهـا (r) عنـد سـرعة زاويـة قـدرها (w) إلـى مجـال طـرد خـارجي يسـاوي W^2r وتسـاوي القـوة الطاردة المركزية Fc على هذا الجسيم حاصل ضرب كتلتـه m- فـي مجـال الطرد.

$$Fc = m - W^2r = m\,(1\text{-}V\text{-}P)\,W^2r$$

والكتلـة m- أقـل مـن الكتلـة m لأن السـائل المـزاح يبـذل قـوة معاكسـة ويساوي هـذا (1-V-P) حيـث V- هـي الحجـم الجزئـي النـوعي للجسـيم و P هي كثافة المحلول.

ويتحرك الجسيم في هذا المجال بسرعة ثابتة V عندما تساوي Vf = Fc حيث أن f هو معامل احتكاك الجسيم. لذلك فإن سرعة ترسيب هـذا الجسـيم تساوي:

$$V = \frac{Fc}{f} = \frac{m\,(1\text{-}V\text{-}P)\,W^2r}{f}$$



الشـكل (8-8): تخطـيط لطريقـة فصـل الحـامض النـووي بواسـطة الفينول والكلوروفورم والإيزواميل.

ويلاحظ من ذلك بأن سرعة الترسيب تتناسب طردياً مع شدة مجال الطرد المركزي.

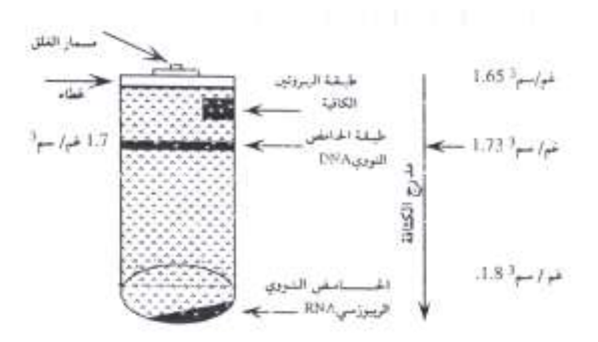
وتأتي أهمية هذه الطريقة في فصل الحامض النووي من أنها توفر مدرج كثافة عن طريق انتشار جزيئات كلوريد السيزيوم بكثافات مختلفة على طول الأنبوبة أثناء عملية الطرد المركزي الفائق.

يتم في هذه الطريقة مزج محلول الخلايا المتحطمة مع 5.6 مولاري من ملح ملوريد السيزيوم CsCl (لأجل توفير كثافة قدرها 1.7 غم/سم^3) حتى ذوبان جميع الملح. وتستخدم لذلك أنبوبة نايتروسليلوز معاملة بمحلول EDTA ويضاف 100 مايكروليتر من الأثيديوم برومايد 10ملغم/سم^3 ويتم التخلص من الهواء المتبقي في الأنبوبة عن طريق إضافة البرافين السائل المعقم. تغلق الأنبوبة جيداً وبصورة محكمة ويراعى التخلص تماماً من جميع الفقاعات الهوائية مهما كانت صغيرة عن طريق إضافة البرافين بواسطة ماصة باستور والضغط الخفيف على الأنبوبة.

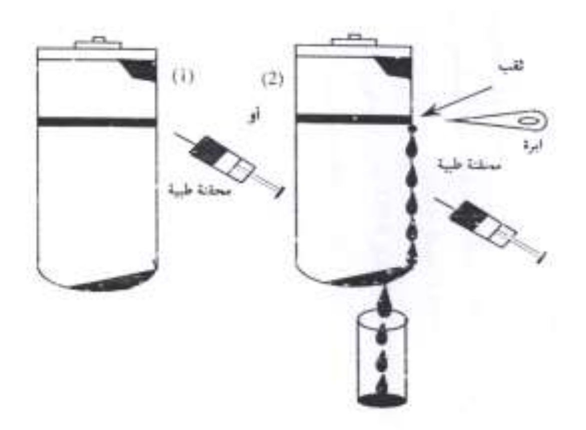
إن وجود الفقاعات الهوائية سيؤدي إلي تبعثر طبقة الحامض النووي عند إجراء الطرد المركزي لذلك يتوجب التخلص منها نهائياً. تطرد الأنبوبة بعد ذلك مركزياً بصورة فائقة في جهاز الطرد المركزي الفائق السرعة بقوة 48.000 دورة في الدقيقة لمدة 48 ساعة. تتحرك أيونات السيزيوم Cs^+ أثناء عملية الطرد المركزي تدريجياً باتجاه القعر وتترافق هذه الحركة مع الانتشار أو الحركة العشوائية للجزيئات مما يعيق الترسب الكلي لأيونات السيزيوم. وبعد حوالي 48 ساعة فإن عملية ترسب الأيونات وانتشار الجزيئات تتوازن في المحلول ولا تحدث بعد ذلك أية حركة انتقال للأيونات باتجاه القعر ويؤدي ذلك إلى الحصول على مدرج من تراكيز أيونات السيزيوم ابتداءً من القعر الأكثر تركيزاً 1.8 غم/سم^3 باتجاه السطح الأقل تركيزاً 1.65غم/سم^3. إن الحامض النووي DNA يتحرك أيضاً باتجاه الأعلى والأسفل تماماً كما تفعل أيونات السيزيوم حتى يستقر عند مستوى معين يتناسب مع كثافته.

وحيث إن كثافة الحامض النووي DNA تماثل كثافة أيونات السيزيوم تركيز 5.6 مولاري والتي تساوي 1.7غم/سم^3 لذلك فإن الحامض النووي DNA سيتجمع عند كثافة 1.7غم/سم^3 ويمكن رؤية حلقة الحامض النووي في أنبوبة الطرد المركزي بعد الانتهاء وذلك بتعريض الأنبوبة للأشعة فوق البنفسجية حيث يظهر كطبقة حمراء لماعة بسبب تآصر بروميد

الآثيديوم معه. كما يمكن مشاهدة البروتينات كطبقة طافية بينما يترسب الحامض النووي DNA في قعر الأنبوبة (الشكل 8-9).



الشكل 8-9: أنبوبة النتروسليلوز بعد إجراء الطرد المركزي الفائق مع ملح السيزيوم 5.6 مولاري ويلاحظ بأن حلقة الحامض النووي DNA تقع في نفس موقع كثافة كلوريد السيزيوم المستخدم.



الشكل 8-10: طريقة تجميع نموذج الحامض النووي DNA من أنبوبة النتروسليلوز بعد إجراء الطرد المركزي الفائق بوجود كلوريد السيزيوم.

يتم سحب طبقة الحامض النووي DNA من أنبوبة الطرد باستخدام محقنة طبية حيث يتم غرز الإبرة تحت حلقة الحامض النووي مباشرة ثم تسحب الطبقة بعد ذلك. كما ويمكن ثقب أنبوبة الطرد تحت حلقة الحامض النووي وتجميع المحلول النازل في قنان صغيرة (الشكل 8-10).

إن طبقة الحامض النووي DNA المعزولة تحتوي على كمية كبيرة من كلوريد السيزيوم وكذلك اثيديوم برومايد لذلك فإنه يجب التخلص من هذه

المواد قبل ترسيب الحامض النووي. يتم تخليص الحامض النووي من الأملاح عن طريق غلق الأنبوبة أو الأنابيب الحاوية على محلوله بطبقة من غطاء شبه نفاذ أو وضع محلول الحامض النووي في كيس شبه نفاذ مغلق بإحكام يوضع الكيس أو الأنابيب في محلول ملحي ضعيف مثل محلول TE الذي ذكر سابقاً وتترك النماذج لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 4ْم ويراعى استبدال المحلول ثلاث أو أربع مرات خلال هذه الفترة حيث تخرج ايونات الملح نحو محلول TE بسبب الاختلاف في التركيز وباستبدال محلول TE عدة مرات فإنه سيتم التخلص كلياً من هذا الملح. ولأجل التخلص من مادة الأثيديوم برومايد المتآصر مع الحامض النووي يضاف محلول البيوتانول BU- tanol إلى محلول الحامض النووي ويمزج جيداً حيث يتلون الكحول باللون الأحمر وبإزالة المحلول وباستبداله بكمية أخرى لعدة مرات فإنه سيتم التخلص كلياً من الاثيديوم برومايد حيث تكون آخر طبقة للكحول رائقة عديمة اللون.

يتم ترسيب الحامض النووي DNA بعد ذلك بواسطة كحول الايثانول المطلق البارد أو الايزوبانول كما سبق الحديث عنه. يجفف الحامض النووي ويذاب بكمية من محلول TE ويحفظ في درجة حرارة 20-ْم حتى استخدامه.

تعتبر طريقة الطرد المركزي الفائق مع ملح كلوريدالسيزيوم من أفضل الطرق العامة المستخدمة في فصل الحامض النووي لأنها توفر نموذجاً نقياً وخالياً من الشوائب تستخدم هذه الطريقة بشكل واسع في فصل البلازميدات المغلقة والمفتوحة حيث إن الاثيديوم برومايد يرتبط بكفاءة عالية مع البلازميدات المفتوحة مقارنة مع الارتباط المحدود مع البلازميدات المغلقة ويؤدي ذلك إلى الاختلاف في كثافتيهما حيث تصبح البلازميدات المفتوحة الحلقة أكثر كثافة من البلازميدات المغلقة لذلك تنفصل طبقة البلازميدات المغلقة كطبقة علوية تليها طبقة البلازميدات المفتوحة الأكثر كثافة.

كما تستخدم هذه الطريقة في تنقية جميع نماذج الأحماض النووية المستخلصة بالطرق الأخرى. كما يمكن استخدامها في فصل الأحماض النووية للعاثيات والرواشح وغيرها.

طرق استخلاص الأحماض النووية من الخلايا والأنسجة:

نظراً لاختلاف النموذج المراد استخلاص الحامض النووي منه فإن هناك طرقاً عديدة للوصول إلى هذا الهدف وتشترك جميعها في التخلص من البروتينات والشوائب الأخرى. وفيما يلي نورد أهم طرق الاستخلاص.

أولاً: استخلاص الحامض النووي **DNA** من كريات الدم:

يجمع نموذج الدم المراد استخلاص الحامض النووي DNA منه في أنبوبة تحتوي على مضاد التجلط مثل EDTA أو محلول سترات الصوديوم أو غيره ويفصل مصل الدم عن الخلايا عن طريق الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة في الدقيقة (لمدة خمس دقائق. يتم التخلص من الراشح وتعاد إذابة الخلايا المترسبة بواسطة كمية مناسبة من المحلول الفسلجي (0.9 غرام 100/Nacl سم^3 ماء مقطر) لإزالة بقايا المصل ويعاد الطرد المركزي ليتم التخلص من الطبقة الرائقة. يضاف 3-2سم^3 من الماء المقطر إلى الخلايا وتمزج جيداً بواسطة عمود زجاجي نظيف حيث يقوم الماء المقطر بتحطيم جدران خلايا الدم وتدميرها ليتم التخلص منها لعدم فائدتها في الاستخلاص (عدم وجود نوى فيها).

يطرد المحلول مركزياً كما سبق ويتم التخلص من الطبقة المائية الحمراء العلوية التي تمثل محلول كريات الدم الحمراء المتحللة. تغسل الكريات المتبقية بالمحلول الفسلجي لعدة مرات مع الطرد المركزي.

يضاف للخلايا المترسبة في الدورة الأخيرة من الطرد المركزي السابق 0.5-2 سم^3 من محلول تحليل الخلايا (0.001 MEDTA PH7.0- 0.5 M Tris – cl,% Lytic soluion 0.5 SDS,1 M Nacl) الذي يعمل على تحليل جدران الخلايا الدموية البيضاء وإطلاق موادها. يحتوي المحلول المحلل على مادة سلفات دودوسيل الصوديوم SDS التي تعمل على تحليل جدران النوى وإطلاق المادة الوراثية وكذلك تعمل على تكثيف البروتينات هذه بإضافة أنزيم البروتينيز (K Proteinase) إلى المحلول كما يضاف أنزيم الارانيز Rnase A للتخلص من الحامض النووي RNA وبعد مزج المحلول جيداً بواسطة عمود زجاجي يتم تفريغه في أنبوبة زجاجية صلدة (أنبوبة الطرد المركزي) ويتم فصل الحامض النووي DNA بإحدى طرق الفصل العام (التي تم الحديث عنها في مقدمة الفصل).

ثانيـاً: اسـتخلاص الحـامض النـووي **DNA** مـن النمـاذج النسـيجية أو الزرع النسيجـي:

يؤخـذ نمـوذج النسـيج المطلـوب اسـتخدامه ويعامـل بـالفورمـالين لتعقيمـه ويقطع إلى أجزاء صغيرة جداً بواسطة سكين حادة جداً ومعقمة داخل طبق زجـاجي معقـم ونظيـف. تنقـل الأجـزاء النسـيجية الصـغيرة بعـد ذلـك إلـى مجانس فائق السرعة Homogenizer Motor مع كمية من محلول -MSB 8.0,001 M EDTA) (0.07 M Sucrose 0.05 M Tris –cl PH EDTA 021 M Mannitol) وتفتـت الأجـزاء إلـى خلايـا بواسـطة المجـانس لمـدة دقيقتـين. ترسـب الخلايـا بواسـطة الطـرد المركـزي بقـوة 5000 دورة فـي الدقيقـة لمـدة خمـس دقـائق ويـتم الـتخلص مـن الراشـح. تغسـل الخلايـا لعـدة مـرات بواسـطة المحلـول الفسـلجي والطـرد المركـزي. كمـا يمكـن تفتيـت الأجـزاء النسيجية إلـى خلايـا بطريقـة ثانيـة وهـي معاملـة الأجـزاء بـأنزيم التربسـين بتركيـز 0.25% حيـث يقـوم الأنـزيم بتفتيـت النسـيج إلـى خلايـا مفردة بعد تركه مع الأجزاء النسيجية لفترة دقيقتين أو خمس دقائق.

ولا تحتـاج خلايـا الـزرع النسيجي إلى هذه المعـاملات التـي تحـدثنا عنهـا الآن وكـل مـا يـراد هـو تجميـع الخلايـا الزرعيـة مـن وعـاء التنميـة بواسـطة قاشطة زجاجية في أنبوبة زجاجية معقمة وطردها مركزيـاً لأجـل الـتخلص من المواد الغذائيـة. كما يمكن معاملـة النسيج الزرعـي مـع إنـزيم التربسـين لعـدة ثـوان قبـل القشـط. تغسـل الخلايـا لعـدة مـرات بـالمحلول الفسـلجي مـع الطرد المركـزي ثـم تنقـل الخلايـا إلـى جهـاز تحطـيم الخلايـا. هنـاك نوعـان مـن أجهـزة تحطـيم الخلايـا الأول يـدعى بالمجـانس الزجـاجي Pestilglass Homogenizer تلحـق بـه ذراعـان الأولـى موسـومة بـالحرف A والثانيـة موسومة بالحرف B. يقوم هذا المجانس بتحطيم جدران الخلايـا عـن طريـق تسـليط ضـغط كبيـر عليهـا. يوضـع نمـوذج محلـول الخلايـا فـي إسـطوانة المجانس الزجاجي مع قليل من محلول: MSB- EDTA ثم يستخدم الـذراع A أولاً وتضـغط لعـدة مـرات بشـدة وبحـذر وبصـورة عموديـة ويعـاد تسـليط الضغط بواسطة الذراع A لعدة مرات لـ(10-20 مرات تقريبـاً) وتسـتبدل الذراع A بالذراع B ويعاد تسليط الضـغط مـرة أخـرى. إن قطـر إسـطوانة المجـانس الزجـاجي أكبـر بـأجزاء مـن المليمتـر مـن قطـر النهايـة الكرويـة للذراع A و B لذلك فـإن الضـغط المسـلط علـى الخلايـا كبيـرة جـداً ويكفـي لتحطيم الخلايا وإطلاق محتوياتها السايتوبلازمية إلى المحلول.

كمــا يمكــن اســتخدام المجــانس المعــدني Metal Homogenizer مــع النتـروجين السـائل. يوضـع محلـول الخلايـا فـي المجـانس المعـدني المبـرد مقـدماً وتضــاف كميـة مـن النتـروجين السـائل ويغلـق المجـانس بواسـطة الغطاء غلقاً محكماً ثم يدور المجـانس كهربائيـاً لدقيقـة أو دقيقتين يضـاف بعدها مزيد من النتروجين السائل ويعاد تدوير الجهاز لفترة أخرى يعمل النتروجين السائل على تجميد محلول الخلايـا بينمـا تعمل الأسنان الداخليـة للمجـانس المعـدني أثنـاء التـدوير علـى تهشـيم الخلايـا المجمـدة وتحويـل المحلول برمته إلى مسحوق يجمع محلول الخلايا المهشمة بواسطة عمود معدني نظيف في أنبوبة طرد مركزي زجاجيـة وتترك فـي درجـة حـرارة الغرفـة لفتـرة وجيـزة حتـى ذوبـان المحلـول ثـم يطـرد مركزيـاً بقـوة 2500 دورة في الدقيقة لمدة خمس دقائق حيث تترسب نوى الخلايا وبقايا جدران الخلايا في أسفل الأنبوبة فيما تبقى المحتويات السايتوبلازمية الأخرى في المحلول الرائق. تزال الطبقـة الرائقـة ويذاب راسب النـوى بإضـافة 3سم^{3} من محلول TE و200 مايكروليتر من محلول SDS (20%) ويمزج جيداً بواسطة عمود زجاجي حيث يصبح المحلول في هذه المرحلة لزجاً للغايـة. يضــاف 10 مــايكروليترات مــن محلــول انــزيم البروتينيــز K (تركيــز 5غم/250سم^{3} TE) وخمسـة مـايكروليتروات مـن محلـول انـزيم Rnase A (تركيز 10/ملغم/ 100سم^{3} ماء مقطر معقم) نمزج جيداً مع المحلـول ويـتم فصل الحامض النووي DNA بعد ذلك بإحدى طرق الفصل العامة التي تم الحديث عنها في مقدمة هذا الفصل ويذكر أنه يمكن استخدام هذه الطريقة أيضاً في استخلاص الحامض النووي من الحيوانات المنوية.

تقطيع الحامض النووي DNA بالانزيمات القاطعة:

تمتـاز انزيمـات القطـع والتـي تـدعى أيضـاً بالانزيمـات المقيـدة بقدرتها علـى تقطيـع الحـامض النـووي DNA إلـى قطـع صـغيرة. وتعتبـر انزيمـات النوع الثاني أفضلها وأكثرها استخداماً لأنها تستهدف مواقع محددة بحيث تعطي عدداً ثابتاً من قطع الـDNA لكل نوع من الأحياء.

فمــثلاً يقــوم الانــزيم القــاطع EcoRl بــالتعرف علــى موقــع القطــع 5 GAATTC3 ويقوم بـالقطع بين الجـوانين وألادنـين. وهكـذا فـإن الانـزيم يقوم قطع سلاسل الـ DNA في جميع المواقع التي تحتوي هذا التردد.

لأجل تقطيـع الــ DNA يؤخـذ 1 مـايكروغرام مـن الــDNA فـي أنبوبـة تفاعل ويضاف إليه 15 مايكروليتر من المحلول الدارئي Buffer الخـاص بالأنزيم المراد استخدامه ثم يضاف بعد ذلك وحدتان من الأنـزيم القـاطع.

يمزج الخليط جيداً وتحضن أنبوبة التفاعل بدرجة حرارة مناسبة (غالباً 23مْ) لمدة 4-2 ساعات. يتم توقيف التفاعل بإضافة قطرة من محلول EDTA الذي يتآصر مع أيونات المغنيسيوم حيث يقف التفاعل من دونها.

ولأجل التأكد من نجاح التفاعل يؤخذ واحد مايكروليتر من التفاعل ويمزج مع صبغة المثلين الأزرق + جليسرول ثم يتم تهجيره كهربائياً عبر هلام الاجاروز حيث يعتبر وجود مسحة ضبابية طويلة بعد صباغة الهلام بالاثيديوم بروما يد نجاحاً للتفاعل.

تفصل بعد ذلك قطع الحامض النووي DNA الناتجة من المعاملة مع الأنزيم القاطع بإحدى طرق الفصل التي سترد لاحقاً.

فصل قطع الحامض النووي DNA المعاملة بالأنزيمات القاطعة:

تعتبر طرق الكيميائية الحيوية في فصل الجزيئات أحد أهم المفاتيح المستخدمة في فصل الأحماض النووية المستخدمة في الهندسة الوراثية. لقد تم تطوير عدد من هذه الطرق لأجل فصل الجزيئات الكيميائية بمختلف تشكيلاتها البنائية. وتتوفر الآن عدة طرق مختلفة للفصل منها الطرد المركزي الفائق والهجرة عبر هلام والكروماتوغرافي وعبرها. وتعتبر طريقة الطرد المركزي الفائق والهجرة عبر هلام من أهم طرق فصل قطع الحامض النووي DNA المعاملة بالأنزيمات القاطعة المتوفرة في كثير من المختبرات والتي يمكن الحصول من خلالها على قطع نقية ومعروفة الحجم والوزن الجزيئي.

الطرد المركزي الفائق Ultraccntrifugation:

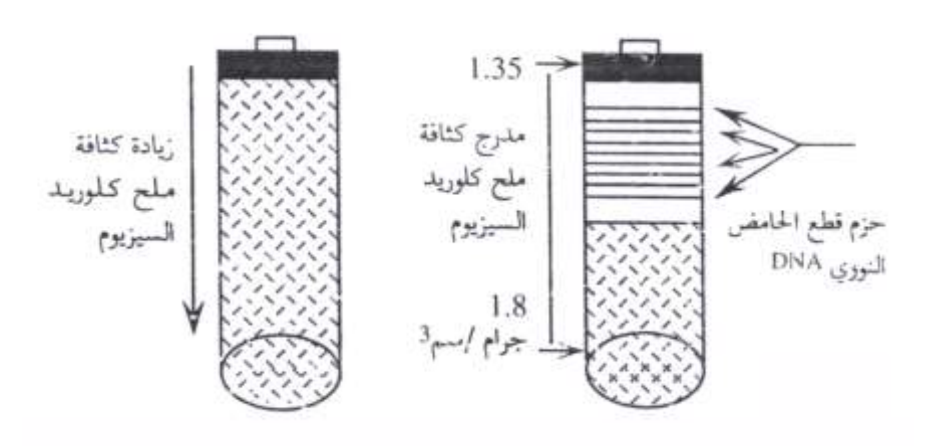
تعتبر هذه الطريقة من أقدم طرق الفصل المستخدمة في فصل الأحماض النووية والبروتينات إضافة إلى استخدامها في فصل وتحليل الخلايا والعضيات السلايتوبلازمية والجزئيات البايولوجية الكبيرة. تتعرض الجزيئات المفصولة بهذه الطريقة إلى عدة عوامل أثناء الطرد تؤدي في النهاية إلى فصلها كطبقات متسلسلة الكثافة والوزن الجزيئي.

ولأجل استخدام الطرد المركزي الفائق في فصل جزيئات مختلفة الحجم والوزن الجزيئي من الحامض النووي DNA فإنه يتم تحضير محلول مدرج الكثافة مثل استخدام محلول السكروز 5% مع محلول السكروز 20% أو استخدام ملح كلوريد السيزيوم CsCl2 بعيارية مولارية 5.6 ثم يضاف محلول قطع الحامض النووي إلى محلول الطرد وعندما

يتم الدوران فإن قطع الحامض النووي ستتحرك داخل المحلول صعوداً ونزولاً حتى يحصل التوازن بين القوة الطاردة المركزية مع الانتشار. ويمكن الحصول على هذا التوازن باستخدام قوة طرد مركزي تتراوح بين 70-40 ألف دورة في الدقيقة rpm لمدة 48 ساعة. وفي نهاية الدوران تنفصل قطع الحامض النووي كحزم داخل أنبوب الطرد المركزي. ويمكن رؤية هذه الحزم بهيئة برتقالية عند إضافة الاثيديوم برومايد قبل الطرد المركزي وعند إضاءة الأنبوبة بالأشعة فوق البنفسجية.

حيث تقع أخف الجزيئات في الأعلى بينما تقع أثقلها بالقرب من القعر (الشكل 8-11).

وتعتبر طريقة الفصل بواسطة الطرد المركزي الفائق من أجود الطرق للحصول على نماذج نقية. إلا أنه من الصعوبة جداً الحصول على نماذج من الجزيئات التي تختلف عن بعضها بأزواج قليلة من النيوكليوتيدات كما أنه من الصعوبة حساب أوزانها الجزيئية المضبوطة. لذلك فإن هذه الطريقة أهملت بشكل شبه تام في عمليات فصل قطع الحامض النووي المعاملة بالأنزيمات القاطعة واستعيض عنها بطرق الهجرة الكهربائية الأكثر دقة والأسهل تقنية وأزهد تكلفة.



شـكل (8-11): الطـرد المركـزي الفـائق بوجـود كلوريـد السـيزيوم ويلاحظ تكون مدرج كثافة للملح بحيث تزداد الكثافة باتجاه القعر وتبعاً لاختلاف كتلة قطع الحامض النووي فإنها تنفصل في مواقع مختلفة.

الهجرة الكهربائية عبر الهلام Gel Electrophoresis:

تعتمد هذه الطريقة في فصل جزيئات الحامض النووي على شحنة هذه الجزيئات وقطبية المحلول المستخدم بوجود تيار كهربائي.

وحيث أن جزيئات الحامض النووي سالبة الشحنة لذلك فإنها تهاجر نحو القطب الموجب. لقد وجد أن سرعة حركة هذه الجزيئات نحو القطب الموجب تعتمد على وزنها الجزيئي.

تجري الهجرة الكهربائية لهذه الجزيئات عادة في هلام وليس في محاليل حرة.

ويتوفر الآن نوعان من الهلام هما هلام الآجارور Agarose وهلام البولي اكريلمايد Polyacrylamide وتختلف استعمالاتها كما سيرد لاحقاً.

إن سرعة هجرة قطع الحامض النووي أو غيرها (V) في المجال الكهربائي يعتمد على قوة هذا المجال (E) وكذلك على صافي الشحنة الكهربائية (Z) ومعامل الاحتكاك (F) الناشيء عن وجود الهلام. ويمكن تمثيل سرعة الهجرة بالمعادلة التالية:

$$V = \frac{EZ}{F}$$

وتصطدم القوة الكهربائية التي تدفع بالجزيء (القطعة) نحو القطب المعاكس باللزوجة fv والتي تنشأ من احتكاك الجزيء مع الهلام. ويعتمد معامل الاحتكاك f على كل من كتلة الجزيئات المهاجرة وشكلها ولزوجة الوسط. وهذا ما يفسر الاختلاف في استخدام نوع الهلام وتركيزه. إذ أن هلام الأجاروز أكثر كثافة من هلام البولي اكريلمايد ولهذا السبب فإن الأول يكون مناسباً لفصل جزيئات الحامض النووي يتراوح حجمها بين 1-60 كيلو قاعدة (kb) أو أكثر بينما يستخدم الثاني لفصل الجزيئات الصغيرة التي تتراوح أحجامها بين واحد كيلو قاعدة فأقل.

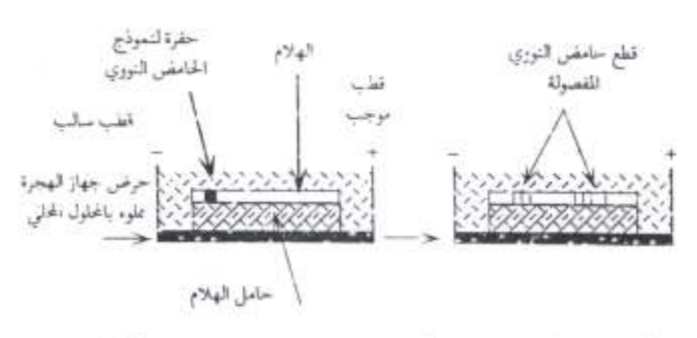
يعود الاختلاف في مسامية هلام الأجاروز والبولي أكريلمايد إلى مكوناتها. إذ أن هلام الأجاروز مؤلف من الجالاكتور ومشتقاته التي تؤلف

بعد الغليان والتبريد وشبكة معقدة نتيجة تولد الأواصر الهيدروجينية بينها مما يحفظ مسامات كبيرة الحجم.

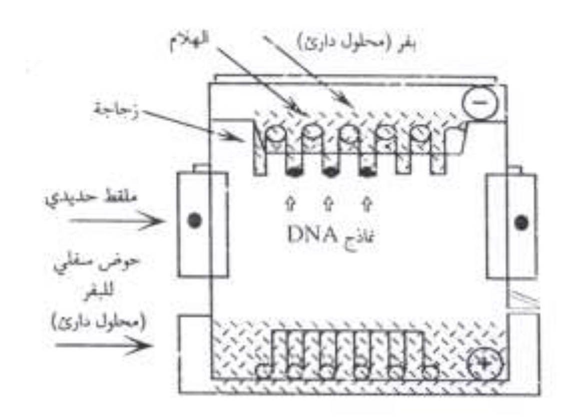
مما يسمح للجزيئات الكبيرة الحجم من الأحماض النووي بالهجرة خلال (شكل 8-12 ولا تتوفر مثل هذه المسامات الكبيرة في هلام البولي اكرليمايد نظراً لتعقد ارتباط مادة الاكرليمايد البلورية مع قاعدتها.

لذلك فإن استخدام 0.3-0.8% من هلام الأجاروز وبسمك نصف سنتميتر سيكون مناسباً لفصل جزيئات الحامض النووي التي تتراوح ما بين 1-60 كيلو قاعدة. بينما يعتبر هلام البولي اكرليمايد 40% وبسمك 0.3 مليمتر مناسباً لفصل جزيئات الحامض النووي التي تتراوح ما بين 1-300 زوج قاعدي. وبزيادة تركيز الهلام يزداد قدرة فصل الجزيئات الأكبر حجماً ويتضح من ذلك بأن قدرة الهلام على فصل قطع الجزيئات النووي تتناسب طردياً مع تركيزه. وتتناسب سرعة الهجرة عسكياً مع تركيز الهلام. كما أنه من الممكن مزج الهلامين لتصنيع هلام أجاروز-بولي أكرليمايد يمكن من خلاله فصل جميع أنواع القطع.

وهكذا فإنه في حقيقة الأمر أن الهلام يعمل كغربال للجزيئات حيث تتحرك الجزيئات الصغيرة بسرعة خلال الهلام بينما تبقى الجزيئات الكبيرة عند القمة ليتم الحصول على مدرج من الجزيئات تختلف بأوزانها الجزيئية ويمكن مشاهدو هذا التدرج عندما يتم صباغة الهلام. فمثلاً يتم صباغة هلام الأجاروز الاثيديوم بروومايد بتركيز 0.5 مايكروغرام/سم^3 لمدة ساعة ثم إضاءة الهلام بالأشعة فوق البنفسجية حيث يظهر جزيئات الحامض النووي DNA المفصولة كحزم حمراء برتقالية لماعة. كما يمكن إظهار حزم الحامض النووي في هلام البولي اكرليمايد باستخدام نترات الفضة حيث تظهر حزم الحامض النووي كحزم سوداء اللون أو بنية.



أ-جهاز الهجرة الكهربائية الأفقي المناسب عند استخدام هلام الاجاروز.



ب- جهار الحركة الكهربائية الرأسي المناسب عند استخدام هلام البولي اكرليمايد.

الشكل 8-12: نوعان من أجهزة الهجرة الكهربائية المستخدمة في فصل قطع الحامض النووي DNA.

التركيز بالتماثل الكهربائي Isoelectric fousing:

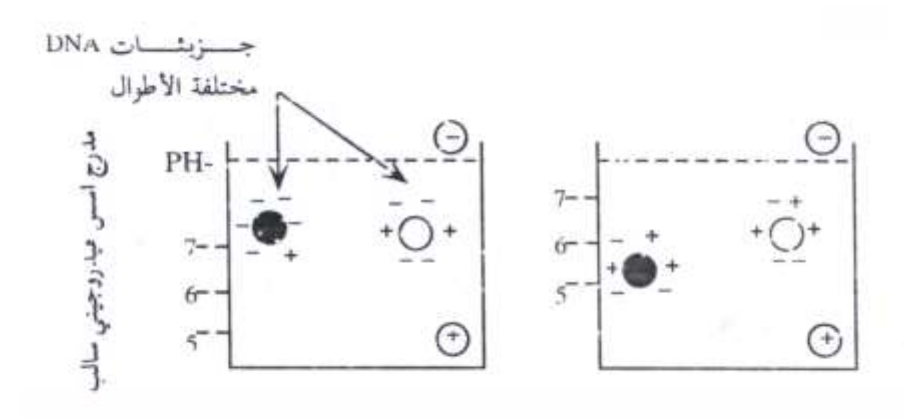
إن الأنزيمات القاطعة تعمل على قطع سلاسل الحامص DNA في مواقع مختلفة وقد تشترك بعض القطع الناتجة عن الهضم بهذه الأنزيمات بنفس الوزن الجزيئي إلا أنها تمثل في الواقع عدة مواقع مختلفة على سلاسل الحامض النووي.

لذلك فإن الطرق السابقة تعمل على تجميع جزيئات الحامض النووي التي لها نفس الوزن الجزيئي في حزمة واحدة دون أن تتمكن من فصل

قطع الحامض النووي المتنوعة التي لها نفس الوزن الجزيئي. لذلك فإنه في سبيل فصل قطع الحامض النووي التي لها نفس الوزن الجزيئي عن بعضها فإنه يتم اللجوء إلى طريقة أخرى تعرف بطريقة التركيز بالتماثل الكهربائي. تعتمد هذه الطريقة على حقيقة أن كل قطعة من قطع الحامض النووي لها نقطة تماثل كهربائي معينة Isoelestric Point (IP) عند أس هيدروجيني (PH) سالب. وعند هذا الأس الهيدروجيني يكون صافي الشحنة على الحامض النووي يساوي صفراً. وعلى الرغم من أن جميع قطع الحامض النووي المراد فصلها بهذه الطريقة لها نفس الوزن الجزيئي إلا أن بعضها يختلف في نقطة تماثله الكهربائي. ويعود الاختلاف في نقطة التماثل الكهربائي (PI) إلى الاختلاف في نسب مكوناتها من القواعد النتروجينية، مما يؤدي إلى الاختلاف في عدد الشحنات الموجبة أو السالبة والموجبة الموجودة عليها.

إن نقطة التماثل الكهربائي لجزيئة حامض نووي DNA معين هي النقطة التي تتعادل فيها الشحنات السالبة مع الموجبة بحيث تصبح الشحنة الصافية تساوي صفراً. وتصل الجزيئة إلى هذه النقطة عند هجرتها في وسط متدرج الاس الهيدروجيني السالب وتكتسب أثناء حركتها الأيونات الكهربائية حتى تصل إلى حالة الاتزان في شحناتها الكهربائية ويكون ذلك عادة عند PH سالب معين.

وتتوقف الجزيئية عن الحركة عند هذا الموضع وهي في حالة الاتزان (الشكل 8-13) ويمكن بواسطة هذه الطريقة فصل جزيئات تختلف قيم التماثل الكهربائي لها بمقدار 0.001 وهو ما يساوي الاختلاف في شحنة كهربائية واحدة ويمكن دمج طريقة الترحيل أو الهجرة الكهربائية وذلك بإجراء الهجرة الكهربائية لقطع الحامض النووي باستخدام هلام الأجاروز أو البولي اكرليمايد لأجل فصل هذه القطع اعتماداً على وزنها الجزيئي ثم يوضع الهلام أفقياً على هلام له قيم تماثل كهربائي كثيرة مثل هلام البولي أمفوليت ثم يسمح لها بالهجرة الكهربائية رأسياً حيث تنفصل الجزيئات المتشابهة الوزن الجزيئي اعتماداً على قيم التماثل الكهربائي لها.



الشكل 8-13: طريقة الفصل التي تدعى بالتركيز بالتماثل الكهربائي حيث تنفصل الجزيئات إلى مواقع مختلفة بسبب اختلافها في نقطة التماثل الكهربائي Isoeiectisc Point.

تهجين الأغشية:

يستهدف هذا النوع من التهجين قطع الحامض النووي بعد نقلها إلى أوراق خاصة وتثبيت الحامض عليها وهو بصورة أشرطة مفردة.

تختلف طبيعة الأوراق المستخدمة في هذا التهجين إلا أن أشهر أنواعها وأفضلها هي أوراق النتروسليلوز وأوراق النايلون التي يطلق عليها Hybond. إن لهذه الأوراق القدرة على الاحتفاظ بالأحماض النووية نظراً لطبيعتها الكيميائية المحورة لأجل هذا الهدف.

طرق تهجين الأغشية:

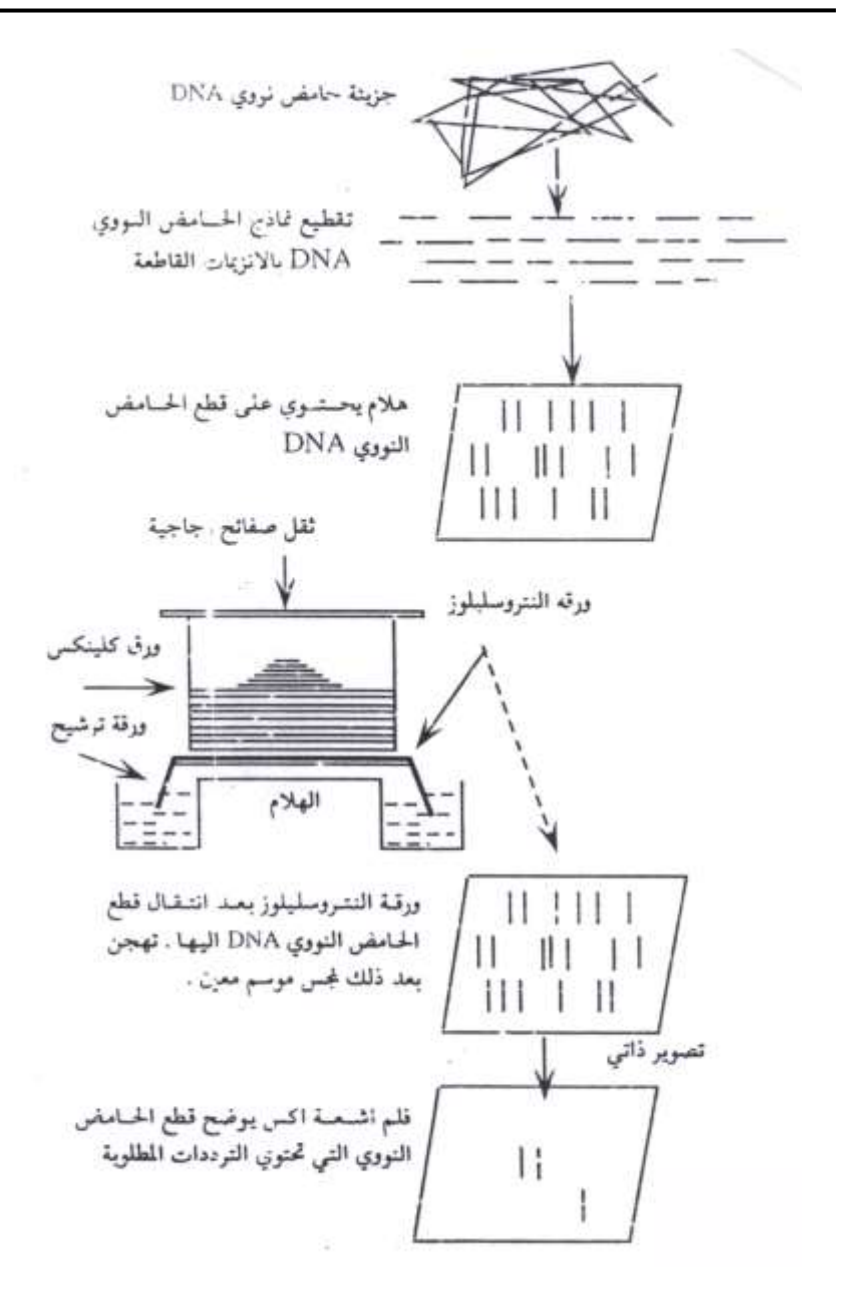
طريقة بصمة ساوثرن Southern Blot:

تتلخص هذه الطريقة في تهجير قطع الحامض النووي DNA المعاملة بالأنزيم القاطع عبر هلام الأجاروز في حقل كهربائي ثم معاملة الهلام معاملة خاصة بواسطة محاليل وثم نقل قطع الحامض النووي إلى غشاء.

يتم معاملة هلام الأجاروز الذي يحتوي على قطع الحامض النووي أولاً بواسطة محلول حامض الهيدروكلوريك (0.25 مولاري) لمدة عشر دقائق لأجل تكسير قطع الحامض النووي وهي في الهلام إلى قطع صغيرة لتسهيل انتقالها إلى الغشاء. ينقل الهلام بعدها إلى محلول قاعدي (مثلاً محلول مؤلف من 0.5 مولاري هيدروكسيد الصوديوم و1.5 موري ملح كلوريد السوديوم) لمدة ساعة واحدة حيث يعمل المحلول القاعدي على فصل أشرطة الحامض النووي عن بعضها البعض وثم تتم معادلة الأسس الحامضي للهلام بغمره في محلول متعادل لمدة 45 دقيقة يكون هلام الأجاروز في هذه المرحلة سهل التهشم لذلك يراعي الاهتمام الزائد في طريقه حمله من المحلول ونقله إلى وعاد التنافذ (يمكن استخدام وعاء الهجرة الكهربائية في ذلك Electrophoresis) يتألف جهاز التنافذ أو الامتصاص الشعريري من وعاء ذي خزانين جانبين للمحاليل ومنصة وسطية مرتفعة.

يتم وضع البفر أو المحلول المستخدم في الامتصاص الشعيري في الخزانات الجانبية (يمكن استخدام محلول SSC × 10) وتبلل ورقة ترشيح مستطيلة الشكل وتوضع على المنصة الوسطية للجهاز بحيث تتدلى جوانبها في محاليل الخزانات الجانبية وتراعى إزالة الفقاعات الهوائية بين ورقة الترشيح المبللة وسطح المنصة الوسطية. ينقل الهلام على سطح ورقة الترشيح ثم يغطى بورقة النتروسيليلوز أو ورقة النايلون (هايبوند) ويراعى أن تكون ورقة النتروسيليلوز أو النايلون بنفس حجم الهلام كما تراعى إزالة جميع الفقاعات التي يمكن أن توجد بين الورقة والهلام. ولأجل التخفيف من مشكلة الفقاعات الهوائية فإنه يفضل غمس الورقة في محلول الخزانات قبل وضعها فوق الهلام.

توضع بعد ذلك كمية كبيرة من أوراق الكلينكس بارتفاع انج واحد على الأقل فوق ورقة النقل ثم يوضع ثقل بوزن كيلوغرام مثل استخدام قطعتي زجاج مربعة الشكل (20×20 سم) فوق أوراق الكلينكس ويترك الجهاز لمدة 6-10 ساعات لإفساح المجال أمام قطع الحامض النووي بالانتقال الكامل إلى ورقة النتروسيليوز أو النايلون (الشكل 8-14).



الشكل 8-14: طريقة وذمة ساوثرن لتحليل قطع الحامض النووي DNA باستخدام مجس موسم معين.

تتم عملية انتقال قطع الحامض النووي من الهلام إلى ورقة النقل عندما يقوم البفر أو المحلول في الخزانات الجانبية باختراق الهلام بعد انتشاره

فـي ورقـة الترشيح السفلية التـي تلاصـق المنصـة الوسطية وباتجـاه ورقـة النتروسليلوز أو النايلون حاملاً معه قطع الحامض النووي. وعندما تصل هذه إلـى ورقـة النتروسـليلوز أو النـايلون فإنهـا تلتصـق بهـا بينمـا يسـتمر محلـول الخزانـات بـاختراق الورقـة باتجـاه أوراق الكلـنكس التـي تمتصـه وتسرع في حصـول العمليـة وهكذا فـإن حـزم الحـامض النـووي تنتقل إلـى ورقـة النتروسـليلوز النـايلون وتشـغل نفس الموقـع الـذي كانـت تشـغله فـي الهلام. وبعد الانتهـاء مـن عمليـة النقل يـزال الثقل ورق الكلـنكس ثـم تـزال ورقـة النتروسـيليوز ويـتم توسـيمها بإشـارة علـى سـطحها السـفلي لتعيـين السطح الـذي انتقلت إليـه حـزم الحـامض النـووي ثـم تجفف الورقـة ويثبت الحامض النووي عليها بوضعها بين ورقتي ترشيح كبيـرة الحجم وتوضـع في جهاز صفيحة ساخنة Hot Plate مرتبطـة مـع مفرغـة هوائيـة ويراعـى أن يكـون السـطح الـذي يحتـوي علـى حـزم الحـامض النـووي إلـى الأعلـى لأجل عدم ضياع حزم الحامض النووي أثنـاء الشـفط. ويجـري الشـفط لمدة ساعتين بدرجة حرارة 80م. بعدها تصبح الورقة جاهزة للتهجين بـالمجس المناسب.

تهجين أوراق النتروسيليلوز أو النايلون:

يتم تهجين هذه الأوراق باستخدام حقيبـة بلاستيكية ذات نـهايـة عريضـة سفلية مفتوحـة ويمكن غلقها بواسطة الحـرارة عند الحاجـة ونهايـة علويـة مغلقة إلا من أنبوب بلاستيك ذي سدادة خاصة.

وتشبه هذه الحقيبة تماماً أكياس الدم المستخدمة عند حفظه. كما تستخدم فـي عمليـة التهجـين قطعتـان مستطيلتا الشكل وأصـغر مـن حجم الحقيبـة. تكون هذه القطع مثقبة بهيئة المنخل وعادة مصنوعة من البلاستيك.

يتم وضع ورقة النتروسليلوز أو النايلون بين القطع المثقبة ويتم ادخالها في حقيبة التهجين ثـم تغلـق النهايـة السفلية لهـا بواسطة الحـرارة والضـغط الميكـانيكي. تعامـل الورقـة أولاً بواسـطة محلـول قبـل التهجـين Pre-hybridization لمدة ساعة بدرجة حرارة 65م (بالنسبة لأوراق النـايلون) أو لمـدة 12 سـاعة بدرجـة حـرارة 42 م (بالنسـبة لأوراق النتروسـليلوز والنـايلون أيضـاً). يحقـن محلـول قبـل التهجـين (يمكـن اسـتخدام المحلـول الثاني: كامل محلول SSC × 5 و1 سم^3 محلول دينهارت و2.5 سم^3 مـاء مقطـر 25 ميكروجرامـاً DNA معـزولاً مـن سـمك السـالمون أو الثـور

مفصول الأشرطة denarated) (يتألف محلول دينهارت من خليط مؤلف مـن جـزء واحـد لكـل مـن محلـول Ficol 400 و PVP وBSA وتخلـط الأجزاء قبل إجراء عملية التهجين مباشرة) في الحقيبة وتغلق الفتحة الأنبوبية بعد ذلك بإحكام.

يوضع الكيس في حمام مائي بدرجة حرارة 65م لمدة ساعة واحدة أو بدرجة حرارة 42 م لمدة 12 ساعة ويراعى رج الحقيبة من وقت لآخر تتم معاملة هذه الأوراق بمحلول قبل التهجين لأجل التخلص من بعض قطع الأحماض النووية التي لم تثبت بشكل جيد على الورقة وكذلك لأجل التصاق الأشرطة المفردة للحامض النووي DNA السمكي المستخدم في المحلول مع المواقع غير المستهدفة في التهجين لإفساح المجال أمام المجلس للإلتصاق مع المواقع النظيرة أو المكملة له. بعد الانتهاء من عملية تعريض الورقة لمحلول قبل التهجين يضاف محلول المجس الموسم إلى محلول قبل التهجين من الفتحة الأنبوبية كما يضاف نصف سم^3 من محلول صوديوم دودوسيل سلفيت 3% cyl Sul- phate Sodium Dodo- و2سم^3 من محلول دكستران كبريتي Dextran supl-hate وتغلق الفتحة الأنبوبية مرة أخرى بصورة محكمة ويخلط المحلول جيداً عن طريق تقليب الحقيبة لعدة مرات قبل وضعها في الحمام المائي.

توضع الحقيبة بعد ذلك في حمام مائي بدرجة 65م لمدة ساعة مع رج الحقيبة من وقت إلى آخر.

يراعى في حالة استخدام المجسات الموسمية بنظائر مشعة حارة استخدام الكفوف الواقية والقيام بهذه المهمة خلف الحواجز البلاستيكية لضمان التقليل من التعرض للإشعاعات.

بعد الانتهاء من الوقت اللازم للتهجين يتم تفريغ الحقيبة أولاً من سوائلها ثم قطع نهاية الحقيبة وإخراج الورقة المهجنة.

تغسل الورقة جيداً بمحاليل ملحية مخففة مدرجة التركيز بحيث تغسل أولاً بالمحلول الأكثر تركيزاً فالأقل وهكذا وبزمن إجمالي قدره 1-2 ساعة بدرجة حرارة تتراوح بين درجة حرارة الغرفة و65م. ويذكر أن محاليل الغسيل تختلف حسب نوع الورق المستخدم في النقل والتهجين كما تعتبر هذه الخطوة حرجة جداً ويجب ضبط الظروف المناسبة من تركيز المحاليل ودرجة الحرارة وزمن الغسيل.

تؤخذ ورقة التهجين بعد ذلك وتجفف بواسطة ورق ترشيخ وتغطـى مـن الجـانبين بواسـطة نـايلون رقيـق Cling Film وتوضـع فـي غطـاء معـدني مزدوج وفي الغرفة المظلمة وتتم تغطية الورقة أشعة أكس ويغلق الغطـاء المعدني جيداً ويوضع بدرجة حرارة 70-م لمدة 7-10 أيام لإتاحة الفرصة للإشعاعات بترك آثارها بصورة واضحة على الفلم الفوتوغرافي. يحمض الفلم بعد ذلك في غرفة مظلمة وبعد الانتهاء من التحميض يغسل الفلم جيداً لإزالة آثار المواد الكيميائية ويترك ليجف ثم تحلل نتائجة لاحقاً.

كمـا يمكـن اسـتخدام مـواد مناعيـة بـدلاً مـن المجسـات المشـعة لـنفس الغرض.

وذمة نورثرن Northern Biotting:

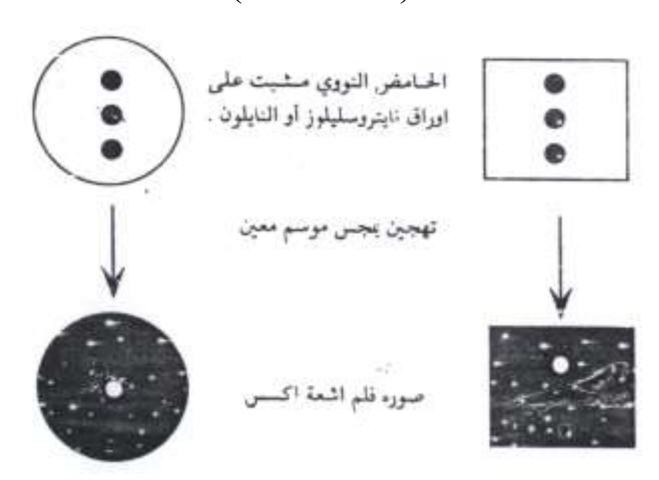
على الرغم من الكفاءة العالية لطريقة ساوثرن فـي نقل قطع الحـامض النووي DNA إلـى ورق النتروسليلوز فإن هذه الطريقـة غيـر مناسبة في ظروفها لنقل الحامض النووي RNA لذلك فإنه تم تطوير طريقة أخرة يتم فيها معاملة الورق المستخدم في النقل كيميائياً لجعله ملائماً لنقل الحـامض النووي RNA.

سـميت هـذه الطريقـة بوذمـة نـورثرن ولا تختلـف عـن الطريقـة السـابقة سوى في نوع الورق المستخدم. تهجن هذه الأوراق باستخدام مجس موسم لحامض نووي DNA أو متمم cDNA.

تبقيع الحامض النووي Dot blot:

يمكن تثبيت الحـامض النـووي DNA دون معاملـة بالأنزيمـات القاطعـة كما في الطريق السابقة ودون الحاجة إلى استخدام الهلام وغيره. يتم بأخذ كميـات محـددة مـن الحـامض النـووي وتثبيتـه بشـكل قطـرات علـى ورق نـايتروسـليلوز أو نـايلون ثـم تـرك لتجـف بعـدها تعامـل بمحلـول حـامض الهيدروكلوريك لمدة خمس دقائق والمحلول القاعدي لخمس دقـائق أخـرى ثم تجف بأوراق ترشيح ويثبت الحامض النووي بطريقة الصفيحة الساخنة بدرجة حرارة 80م وجهاز الشفط السابق ذكره.

تهجن بعد ذلك الأوراق بنفس الطريقة التي وردت في تهجين أوراق النترسليلوز أو النايلون (الشكل 8-15).



الشكل 8-15: تبقيع الحامض النووي DNA عن طريق أوراق النتروسليلوز أو النايلون.

تهجين التحضيرات الخلوية **In situ hybridization**:

يتم في هذه الطريقة تعيين موقع مورث معين على الصبغيات باستخدام مجس موسم إشعاعياً (يستخدم عادة لهذه الغرض مجس موسم بنظير الهيدروجين H3) وطريقة الصباغة المعروفة بتحزم -G G- Banding لتعيين الصبغي وموقع المورث. يمكن في هذه الطريقة استخدام تحضرات خلوية من المزارع النسيجية أو القمم النامية للنباتات أو الأنسجة الحية بعد معاملات كيميائية خاصة.

تتلخص هذه الطريقة باستخدام خلايا منقسمة مثبتة في الطور الاستوائي Met- aphase ويمكن الحصول على هذه الخلايا في هذا الطور عن طريق إضافة مادة الكولسميد Colcemide أو الكولجسين Colchesin بتركيز 3 مايكروجرام/ سم^3 إلى الخلايا المنقسمة ولمدة ساعتين. كما يمكن إضافتها لدورق الماء الذي ينمو فيه النبات في حالة تحضير الخلايا من القمم النامية الجذرية. تثبت الخلايا هذه على شرائح زجاجية نظيفة تماماً وتُعامل مع محلول مخفف لتحطيم جدران الخلايا والنوى وإطلاق مجاميع الصبغيات. تثبت هذه على الشرائح عن طريق معاملتها مع خليط من كحول الايثانول وحامض الخليلك الثلجي Glacidai acetic acid ثم

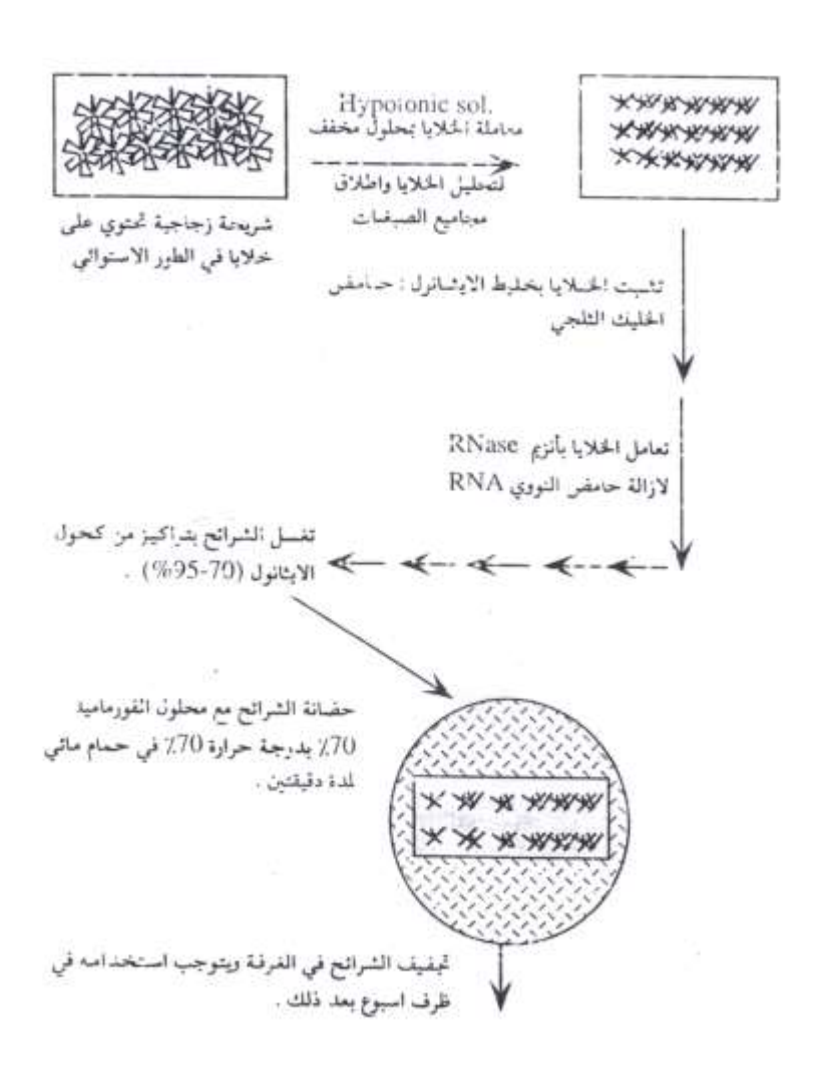
تجفف الشرائح بدرجة حرارة الغرفة وتستخدم للتهجين خلال أسبوع من ذلك.

تعامل هذه الشرائح لأجل تهيئتها للتهجين بمحلول أنزيم Rnase بتركيز 100مايكروجرام/ سم^3 وبدرجة حرارة 37مْ لمدة ساعة. تغسل بعدها بمحاليل مدرجة من الإيثانول (70-95%) تعامل بمحلول الفورماميد 70% بدرجة حرارة 70مْ لمدة دقيقتين –خمسة أو بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 15% لأجل فصل أشرطة الحامض النووي DNA في الصبغيات. تغسل الشرائح بعد ذلك بمحاليل الإيثانول المدرجة وتجفف بدرجة حرارة الغرفة (الشكل 8-16).

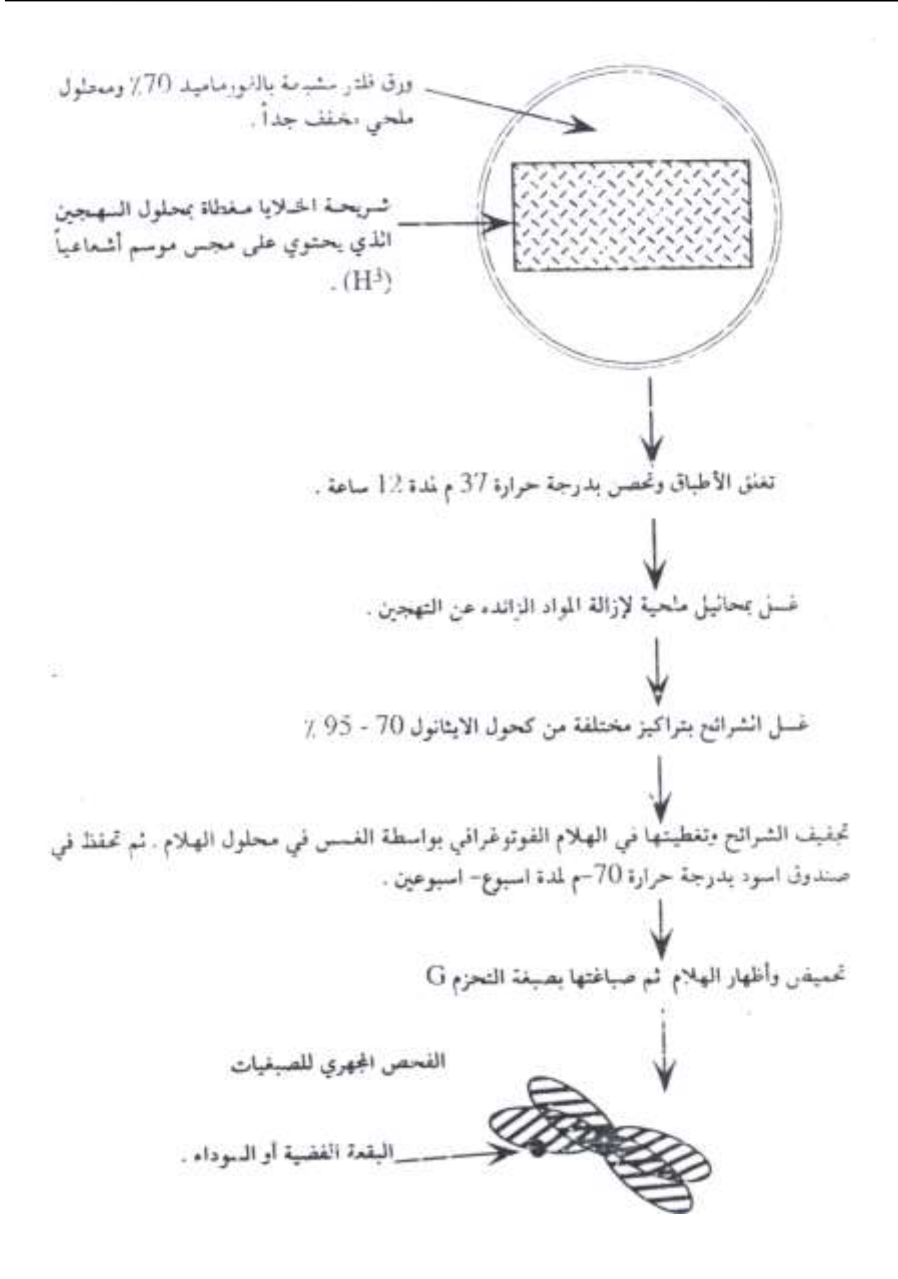
توضع الشرائح فوق أوراق مبللة بالفورماميد 70% ومحلول ملحي مخفف في أطباق ويوضع محلول التهجين الذي يحتوي على المجس الموسم إشعاعياً فوق كل شريحة. تغلق الأطباق وتحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة 13 ساعة. تغسل الشرائح بعد الحضانة بمحاليل ملحية مختلفة التركيز لإزالة المواد المشعة غير المرتبطة والزائدة ثم تغسل في محاليل الكحول المدرجة. تجفف الشرائح وتغطى في غرفة مظلمة بطبقة رقيقة من الهلام الفوتوغرافي Photographic emulsian وتحفظ الشرائح في صندوق أسود محكم الغلق بدرجة حرارة 70مْ لمدة أسبوع أو أكثر.

تحمض الشرائح في غرفة مظلمة وتغسل بعد ذلك بماء مقطر وتصبغ بصباغة تحزم -G تفحص بعد ذلك بواسطة المجهر الضوئي المركب حيث يظهر بقطع فضية أو سوداء فوق صبغيات معينة تمثل موقع المورث المطلوب تعيين موقعه (شكل 8-17).

ويذكر أن هذه الطريقة حساسة جداً وتتطلب المهارة واستخدام محاليل معروفة التأثير خصوصاً في الغسل بعد التهجين. إذ يمكن في حالة عدم ضبط الطريقة الحصول على بقع فضية غير حقيقية تجعل من الصعوبة تحديد موقع المورث المطلوب. ويمكن استخدام التحاليل الإحصائية في تعيين هذه النتائج ولكنها قد تكون غير مؤكدة.



الشكل (8-16): طريقة تهيئة ومعاملة الشرائح الزجاجية الحاملة للخلايا اللازمة في التهجين الخلوي.

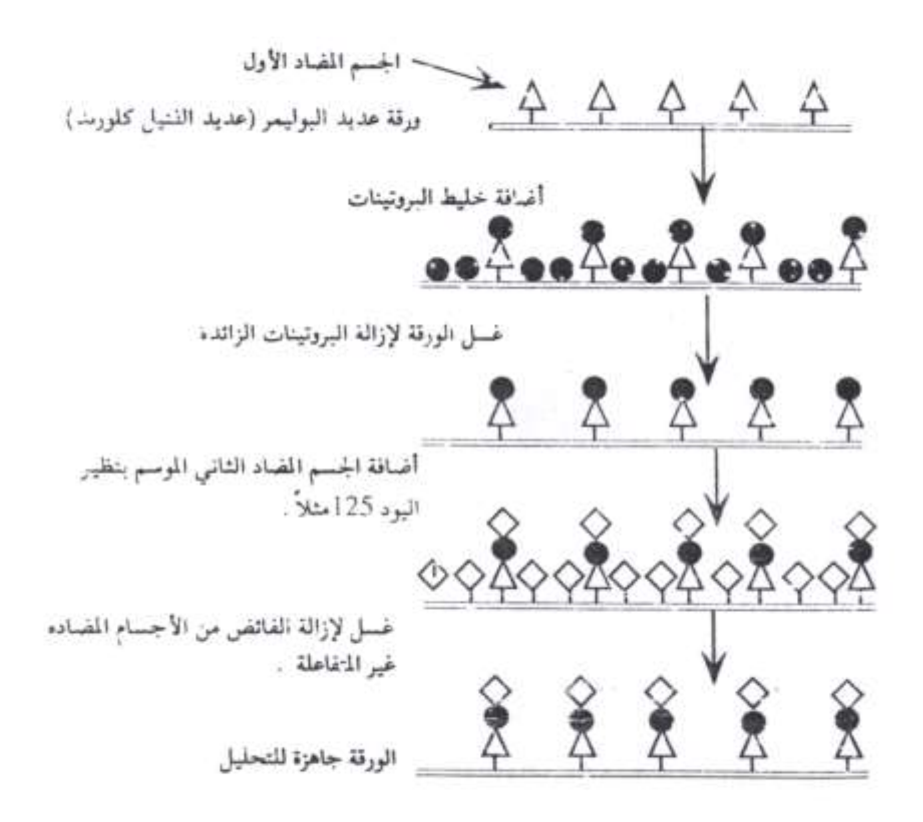


الشكل (8-17): تهجين الصبغيات في التحضيرات الخلوية.

تهجين البروتينات أو وذمة ويسترن Western Blotting:

يمكن الكشف عن بروتين معين بطرق مختلفة ولكن هناك ثلاث طرق رئيسية لعمل ذلك منها ما يدعى بالقياس المناعي الجاف Solid phase

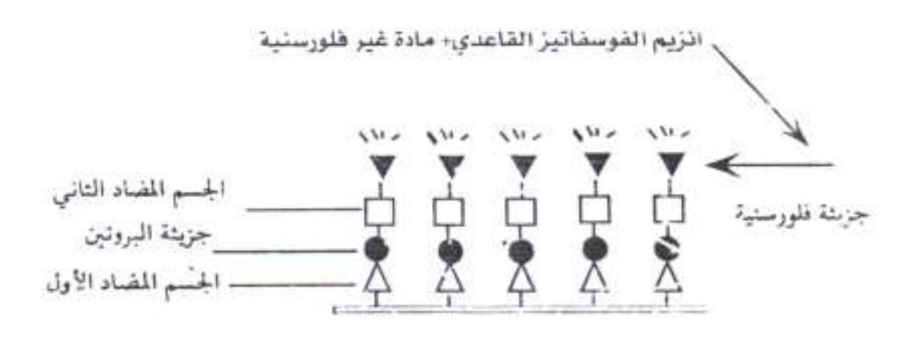
وتـتلخص هـذه الطريقـة بوضـع جسـم مضـاد للبـروتين immunoassay المطلوب الكشف عنه على ورقة مؤلفة من عديد البوليمرات ثم يوضع نموذج خليط البروتينات على الورقة حيث سترتبط الأجسام المضادة مع البروتين الخاص بها وتلتصق بقوة على سطح الورقة مرة ثانية لإزالة المواد غير المتفاعلة ويتم قياس قوة الإشعاع للتعرف على كمية البروتين المطلوب في العينة المفحوصة (شكل 8-18).



الشكل 8-18: القياس المناعي الجاف ويمكن في هذه الطريقة تعيين كمية البروتين أو نوعه أو كمية الأجسام المضادة في عينة من الدم أو البول أو خليط بروتيني باستخدام مجس إشعاعي أو فلورنسي.

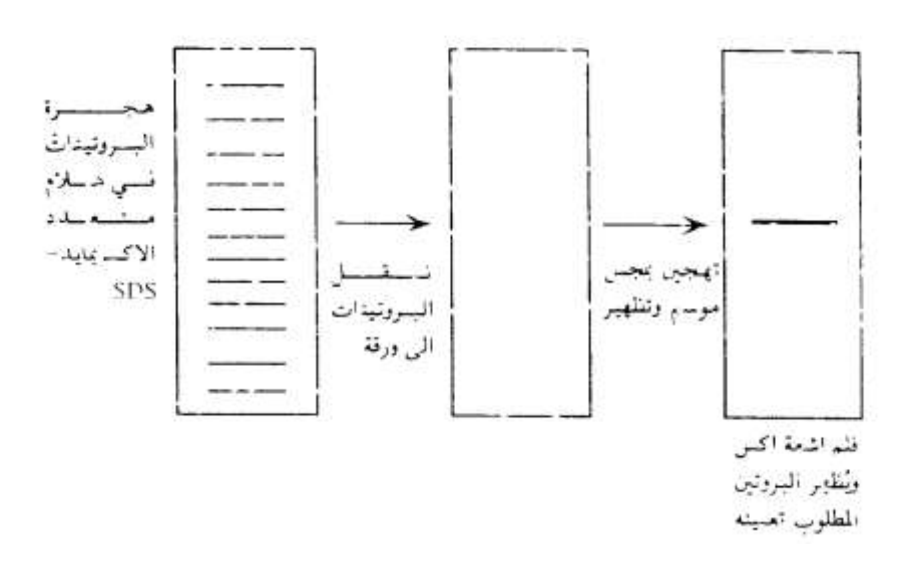
(شكل 7-7) وقد تم زيادة حساسية هذا الاختبار ذلك بإضافة أنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase الذي يعمل على إكساب الجسم المضاد المتخصص الثاني وميضاً فلورسنياً يمكن الكشف عنه تحت

المجهر الفلورسني المزود بالأشعة فوق البنفسجية وسميت هذه الطريقة بطريقـة اليـزا Elisa وهـي مختصـر لطريقـة قيـاس الامتصـاص المنـاعي المرتبط بـالانزيم Enzyme linked immunosorbent. تعتبر طريقة اليزا الطريقة الثانية في الكشف وتحديد كمية البروتينات (شكل 8-19).



الشكل 8-19: طريقة القياس المنـاعي المرتبط بـالانزيم ELISA حيث يتم توفير جزي فلورسـني من التفاعل الانزيمـي لتمييز الأجسـام المضـادة المتفاعلة مع البروتين المطلوب تعيينه أو تقدير كميته.

اما الطريقة الثالثة فهي وذمة ويسترن. وفي هذه الطريقة يتم ترحيل أو هجرة البروتينات في هلام مؤلف من عديد الاكريلمايد المحتوي على مـادة SDS ثـم تنقـل حـزم البروتينــات إلــى ورق مصـنوع مـن عديـد البـوليمر (النتروسليلوز) وتهجن بعد ذلك بجسم مضـاد متخصـص موسم شعاعياً أو موسم بالبايوتين وبعد الانتهاء من التهجين تغسل الورقة لإزالة المواد غير المرتبطـة وتغطـى بفلم أشـعة أكس فـي غرفـة مظلمـة وتحفظ لفترة معينـة بدرجة حراة 70مْ ثم تحمض ويتم تحليل النتائج بعد ذلك حيث تظهر حزمة البــروتين المطلــوب تشخيصـــه كحزمـــة ســـوداء علـــى أشـــعة أكـــس (شكل 8-20).



الشـكل 8-20: كشـف البـروتين عـن طريـق وذمـة ويسـترن وتظهـر الحزمة السوداء في فلم أشعة إكس التي تقابل البروتين المطلوب تعيينه.

قراءة تسلسل ترددات الحامض النووي DNA Sequencing DNA:

أحدث إيجـاد طريقـة لمعرفـة تسلسـل تـرددات الأحمـاض النوويـة ثـورة حقيقة الوراثة الجزيئية والهندسة الوراثية حيث تمكن الباحثون بواسطتها من معرفة تركيب المورثات بالتفصيل وكذلك النيوكليوتيدات المحيطة بها والتي يعتقد لبعضها تأثيراً كبيراً في تنظيم عمل المورثات.

يرجع نشر أول تسلسل لقطعة حامض نـووي يبلـغ طولهـا 5386 زوجـاً قاعـدياً مـأخوذاً مـن العـائي 174× Φ إلـى عـام 1975 ثـم تبعهـا تسلسـل الحـامص النـووي لفـايروس السـيميان SV 40 (5243 زوجـاً قاعـدياً) عـام 1977 وتسلسـل البلازميـد PBR 322 (4363 زوجـاً قاعـدياً). وفـي عـام 1981 قام سانجر ومساعدوه بنشر تسلسل صبغي المايتوكندريا البشرية الذي يبلغ طوله 16.5 كيلو قاعدة وصبغي العاثي لا مبدا الذي يبلـغ طولـه 49 كيلو قاعدة عام 1983.

أن هنـاك طـريقتين لقـراءة تسلسـل تـرددات الحـامض النـووي DNA ظهرت كلتاهما في سنة 1977 وهما طريقة مـا كسـام وجلبـرت -Maxam

Gilbert Method وطريقة سانجر –كولسون .Sanger- Coulsen m إلا أنهما تختلفان في تفاصيلهما كثيراً.

طريقة ماكسام وجلبرت Maxam- Gilbert Method:

تعرف هذه الطريقة أيضاً باسم الشق الكيميائي المختص Specifc Chemical Cleavage وتتلخص باستخدام شريط مفرد من الحامض النووي DNA موسم النهاية بنظير الفوسفور 32 (^{32} P) ويستخدم لذلك عادة أنزيم كاينيز عديد الببتيد Polpolypeptidal Kinase الذي يضيف الفوسفور إلى مجموعة الهيدروكسيل في النهاية الخامسة للشريط.

يتم كسر هذا الشريط في مواقع عند أحد النيوكلوتيدات الأربعة وبصورة تفضيلية عن طريق المعاملة بمواد كيميائية متخصصة. ويؤدي ذلك إلى إنتاج أشرطة مختلفة الطول تبدأ دائماً من النهاية الموسمة وانتهاءً بقاعدة معينة, ثم تفصل هذه الأشرطة عن طريق الهجرة الكهربائية باستخدام هلام عديد الاكريلمايد الذي يمكنه فصل هذه الأشرطة عن بعضها حتى لو كان الاختلاف بالطول في نيوكليوتيدة واحدة فقط. ثم يغطى الهلام بعد ذلك بفلم أشعة أكس لفترة معينة في الظلام والبرودة ويحمض ويقرأ أثر الإشعاع.

يتم انتاج الأشرطة مختلفة الأطوال والمعروفة النهايات عن طريق استخدام مواد Dimethel sulfate الذي يضيف مجموعة مثيل (CH3) لذرة النايتروجين السابعة في الجوانين والثالثة في الادينين. يتم التخلص من القاعدة النتروجينية المميثلة بالتسخين عند أس هيدروجيني متعادل وهكذا يتم انتاج شريط ذي نيوكليوتيد خال من القاعدة النتروجينية. يكسر العمود الفقري للشريط عندها في موقع هذه النيوكليوتيدة عن طريق إزالة حلقة السكر الخماسي وذلك بتسخين الأشرطة بوجود مادة قلوية قاعدية مثل هيدروكسيد الصوديوم.

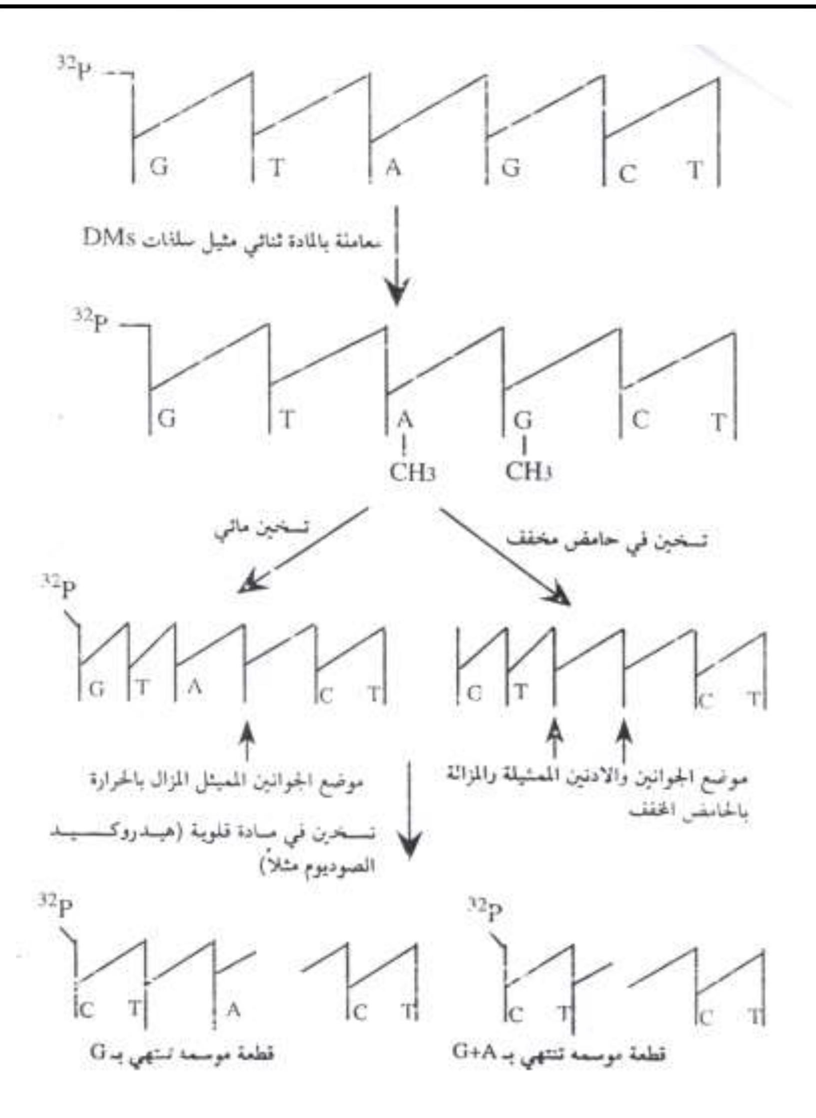
إن الإشرطة الناتجة يتم كسرها من النيوكليوتيدات الحاوية على الجوانين لأن هذه القاعدة لها قابلية كبيرة جداً للارتباط مع مجموعة المثيل أكثر بكثير مما للأدينين ويمكن إزالتها بالتسخين المائي فقط. وهكذا يمكن الحصول على أشرطة مختلفة الطول تبدأ بالفسفور الموسوم بنظير الفسفور 32 وتنتهي بنيوكليوتيدة تحتوي على الجوانين. ويمكن الحصول على أشرطة تنتهي بنيوكليوتيدات تحتوي على الجوانين أو الادنين وذلك بتسخين الأشرطة بعد إضافة مجموعة المثيل في حامض مخفف تم

تسخينها بوجود مادة قلوية لإزالة السكر. وهكذا يتم إنتاج أشرطة تنتهي بالقاعدة G في الحالة الأولى وأشرطة بالقاعدتين A+G في الحالة الثانية (الشكل 8-21).

أما بالنسبة للبايرميدينات (السايتوسين والثايمين) فإنه يتم ميثلتها بإضافة الهيدرانين Hydrazine ثم إزالتهما بالتسخين المائي وثم كسر الأشرطة بإضافة الببريدين Piperidine أن السايتوسين والثايمين يكونان متساويين في الشدة لذلك فإنه يتم إزالتهما سوية بعد الميثلة.

إن الأشرطة الناتجة عن هذا التفاعل مختلفة الطول ولكنها جميعاً تنتهي بالسايتوسين والثايمين (T + C) ولأجل التمييز بين الأشرطة فإنه يتوجب الحصول على أشرطة مختلفة الطول تنتهي جميعها بالسايتوسين فقط أو الثايمين فقط.

ونظراً لأن وجود ملح كلوريد الصوديوم بعيارية 2 مولاري (2M) مع الهيدرازين يثبط التفاعل مع الثايمين فإنه يتم عندئذ الحصول على أشرطة تنتهي جميعاً بالسايتوسين فقط (C) وبعد الانتهاء من هذه التفاعلات يتم تهجير كل منها في موقع خاص كهربائياً باستخدام هلام عديد الاكريلمايد وتستكمل عملية الحصول على صورة إشعاعية لها ويقرأ تسلسل ترددات الحامض النووية بمقارنة G و G+A و C و C-T.



الشكل 8-21: طريقة تحضير قطع موسمة من الحامض النووي معروفة النهايات في قراءة تسلسل ترددات النيوكليوتيدات وفق طريقة ماكسام وجلبرت.

فلو افترضنا بأن شريط الحامض النووي الموسوم يتألف من الترددات التالية 5TGGGCTTAGC-3 فإنه بإجراء التفاعلات السابقة سيتم الحصول على أنواع الأشرطة التالية:

أنواع الأشرطة التي تنتهي بالقاعدة G: أنواع الأشرطة التي تنتهي بالقاعدة C:

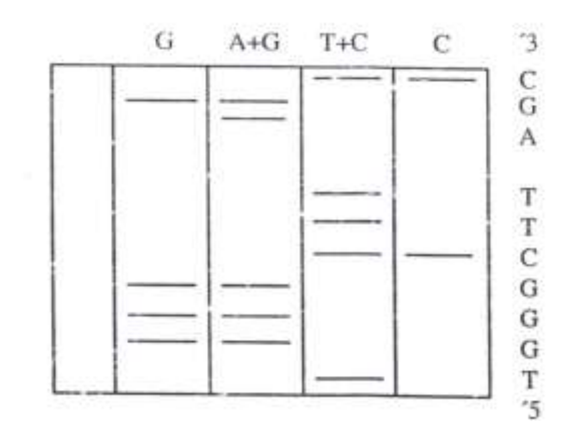
^{32}p-TG

^{32}p-TGGGC

^{32}p-TGG	^{32}p-TGGGCTTAGC
^{32}p-TGGG	
^{32}p-TGGGCTTAG	

أنواع الأشرطة التي تنتهي بالقاعدة G أو A	أنواع الأشرطة التي تنتهي بالقاعدة C أو T
^{32}p-TG	^{32}p-T
^{32}p-TGG	^{32}p-TGGGC
^{32}p-TGGG	^{32}p-TGGGCT
^{32}p-TGGGCTT	^{32}p-TGGGCTT
^{32}p-TGGGCTTAG	^{32}p-TGGGCTTAGC

وعند إجراء الهجرة الكهربائية لها والحصول بعد ذلك على فلم أشعة إكس فإن النتائج ستكون كما هو في الشكل (8-22).



الشـكل 8-22: قـراءة تسلسـل التـرددTGGGCTTAG 5C-3 حسـب طريقة ماكسام وجلبرت.

طريقة سانجر-كولسون **Sanger- Coullson method**:

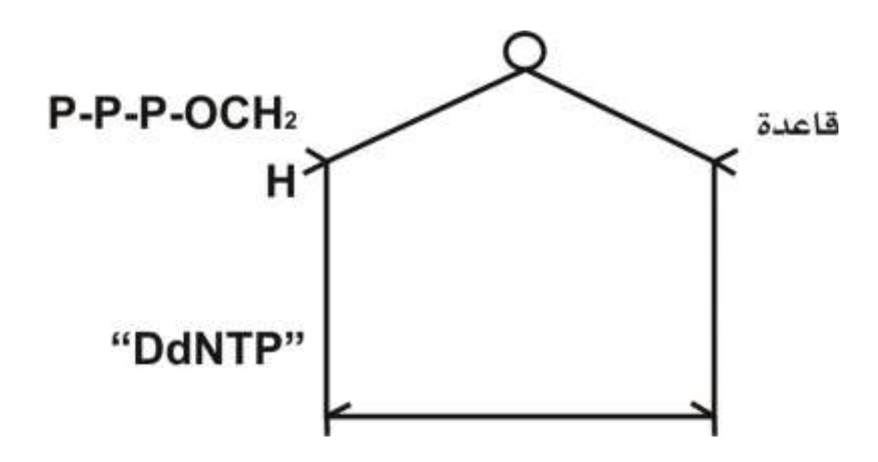
تعتمد هذه الطريقة على استخدام جزيئية 2.3 dideoxy nuclecside triphosphate وهـي مـن مشـابهات النيوكليوتيـدات الطبيعيـة وتـتمكن مـن الاتحاد في تفاعل تصنيع سلاسل الحـامض النـووي DNA بشكل اعتيـادي

من خلال النهاية الفوسفورية الخامسة لها ولكنها لا تتمكن من الارتباط مع النيوكليوتيد التالي لعدم قدرتها على توليد آصرة الفوسفور ثنائي الاستر حيث لا تمتلك هذه الجزيئات النهائية الهيدروكسيلية (3OH) الضرورية لتوليد مثل هذه الآصرة (شكل 8-23).

لهذا السبب فإن نمو سلسلة الحامض النووي سيتوقف حال دخول هذه الجزيئة في البناء. ونظراً لوجود أربعة أنواع من الجزيئات المشابهة نظيرة النيوكليوتيدات الطبيعية فإنه أصبح بالإمكان الحصول على سلاسل حامض نووي تنتهي بنيوكليوتيد معروف القاعدة النتروجينية. لذلك فإن هذه الطريقة تستلزم إجراء أربعة تفاعلات كيميائية تتم إضافة جزيئة مشابهة واحدة فقط إضافة للنيوكليوتيدات الطبيعية الأربعة في كل تفاعل للحصول على أربعة أنواع من السلاسل التي تنتهي كل منها بقاعدة مختلفة. وبالهجرة الكهربائية لها على هلام عديد الاكرليمايد فإنه سيتم الحصول على حزم مختلفة الحجم تمثل كل منها تسلسل القاعدة البديلة في قطعة الحامض النووي. فمثلاً إذا كانت الجزيئة النظيرة هي 2.3dideoxy cytosine.dd CTP triphate فإن الحزم الناتجة تقرأ على أنها G وإذا كانت الجزيئة النظيرة هي ddGTP فإن الحزم الناتجة تقرأ على أنها C وهكذا بالنسبة لبقية القواعد.

تستلزم طريقة سانجر-كولسون استخدام شريط مفرد من الحامض النووي DNA المطلوب معرفة تسلسل نيوكليوتيداته مهندس في العائي M13 وبإضافة بادئه قصير موسمة إشعاعياً (p32) إلى محلول العائي المهندس وراثياً بالقطعة المطلوبة ووجود النيوكليوتيدات الطبيعية الأربعة (يجب أن تكون أحداها موسمة بنظير الفوسفور 32) إضافة للقاعدة النظيرة dd (مثلاً ddATP) فإن أنزيم قطع الكلينو سيستخدم البادئة كنقطة بداية لتصنيع سلسلة جديدة أو شريط جديد للشريط المهندس والذي يستخدم كقالب ويستمر نمو الشريط الجديد حتى دخول جزيئة النظير ddATF في التفاعل حيث يتوقف التفاعل عندئذ عند هذه القاعدة. وبما أن القواعد المضافة للتفاعل تحتوي بالإضافة للجزيئة النظيرة ddATP على الجزيئة الطبيعية dATP فإن توقف التفاعل لا يحدث دائماً عند أول نيوكليونيد يحمل الادنين يدخل في التفاعل بل فقط عند دخول الجزيئة النظيرة ddATP لذلك يتم الحصول على أشرطة أو سلاسل مختلفة الطول إلا أنها جميعاً تنتهي بجزيئة نظير ddATP. فإذا ما تم إجراء أربعة تفاعلات

منفصلة كل منها يحتوي على جزيئة نظيرة dd مختلفة فإنه سيتم الحصول على أربع مجاميع من الأشرطة مختلفة النهايات.



الشـكل 8-23: الشـبية الكيميـائي triphate 2.3dideoxynucleoside المستخدم كبديل للنيوكليوتيد الطبيعي والذي يعمل على إيقاف البلمرة عند دخوله في البناء.

يجري بعد ذلك فصل هذه الأشرطة بواسطة الهجرة الكهربائية على هلام رقيق (أقل من نصف مليمتر سمكاً) من عديد الاكريلمايد الذي يحتوي على اليوريا وبدرجة حرارة لا تقل عن 60م (تساعد اليوريا والحرارة العالية على فصل الأشرطة المزدوجة للحامض النووي). وبعد تصوير نتائج الهجرة على فلم أشعة أكس تتم قراءة التسلسل اعتباراً من الحزمة البعيدة جداً والتي تمثل أقصر القطع.

فلو افترضنا أن شريط الحامض النووي المطلوب معرفة تسلسل نيوكليوتيداته مؤلف من التسلسل 5`-3-GAATTCGTAATGC` وإن البادئة المستخدمة في التفاعل مؤلفة من التسلسل 3`-5CTTAA` فإنه بإجرء التفاعلات السابقة فإنه سيتم الحصول على أنواع الأشرطة التالية:

-أنواع الأشرطة في حالة استخدام الجزيئة النظيرة ddATP:

`5-CTTAAGCGAdd

`5-CTTAAGCGATTAdd

-أنواع الأشرطة في حالة استخدام الجزيئة النظيرة ddGTP:

`5-CTTAAGdd

`5-CTTAAGCGdd

`5-CTTAAGCGATTACGdd

-أنواع الأشرطة في حالة استخدام الجزيئة النظيرة ddCTP:

`5-CTTAAGCdd

`5-CTTAAGCGATTACdd

-أنواع الأشرطة في حالة استخدام الجزيئة النظيرة ddTTP:

`5-CTTAAGCGTdd

`5-CTTAAGCGATTdd

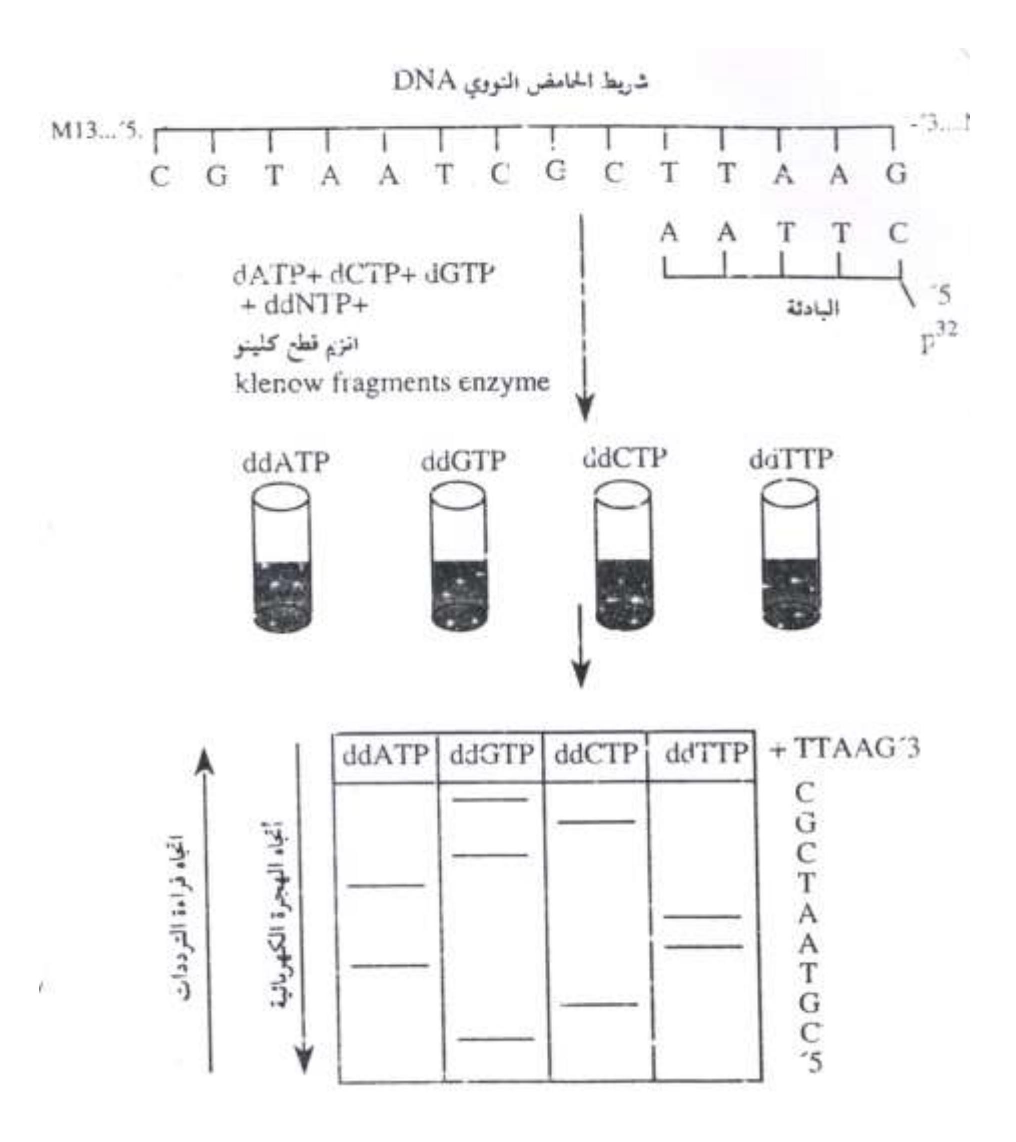
وعند إجراء الهجرة الكهربائية لها والحصول بعد ذلك على فلم أشعة أكس فإن النتائج ستكون كما في (الشكل 8-24).

وقد ابتكرت طريقة ثالثة نشرت عام 1980 من قبل سمث وجماعته في مجلة الطبيعة Nature تعتمد هذه الطريقة على وجود طرف مضيء فلورسني في البادئة ويكون لكل تفاعل طرف مضيء يختلف عن الطرف المضيء للتفاعلات الأخرى وتخلط التفاعلات جميعها بعد ذلك في أنبوبة واحدة وتفصل السلاسل كهربائياً ويتم فحص الهلام بعد ذلك بطريقة الفحص الفلورسني المعروف ابتداء من نهاية الهلام حيث يبدأ أول ورود للنيوكليوتيدة الأولى في تسلسل الحامض النووي المفحوص، وقد طورت هذه الطريقة بحيث أصبح الفحص يجري تلقائياً (أتوماتيكياً) لكل تفاعل بصورة مستقلة ويعطي الجهاز خطوطاً بيانية ملونة حسب لون الطرف المضيء المستخدم في التفاعل (الشكل 8-25).

كما طورت طرق قراءة تسلسل نيوكليوتيدات الحامض النووي DNA عن طريق استخدام الحاسوب حيث يقوم الحاسوب بتسجيل تسلسل النيوكليوتيدات آلياً وخصوصاً تلك التي تمثل حجم كبير من الحامض النووي.

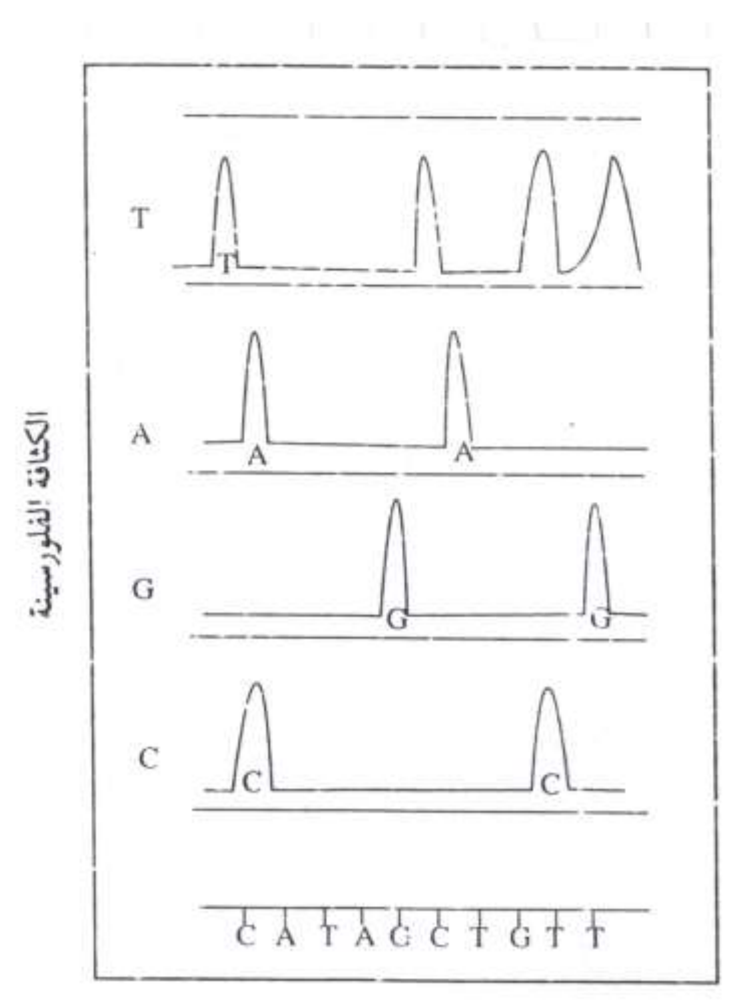
كما أن الحاسوب يقوم كذلك بتحديد مواقع قطع الإنزيمات وكذلك مواقع إشارات ابتداء وانتهاء تصنيع الحامض النووي RNA وتحديد الترددات المتعاكسة Palindromes. كما أنه يمكن للحاسوب القيام بتحديد الترددات المتماثلة ونسبها عند مقارنة ترددات أنواع مختلفة

مـن الحـامض النـووي. وإعطـاء تسلسـل الأحمـاض الأمينيـة اعتمـاداً علـى تسلسـل النيوكليوتيـدات. وأصـبح الحاسـوب الآن جهـازاً لا غنـى عنـه فـي الوراثة الجزيئية.



الشـكل 8-24: طريقـة سـانجر كولسـون فـي قـراءة تسلسـل تـرددات نيوكليوتيـدات الحـامض النـووي DNA. إن دخـول جزيئـة dd فـي التفاعـل

تؤدي إلـى إيقـاف نمـو سلسـلة الحـامض النـووي عنـد موقـع الـدخول وعنـد اسـتخدام أربعـة أنـواع مـن جزيئـات dd فإنـه يمكـن الحصـول علـى أربعـة أنواع من جزيئات الحامض الموسمة النهائية.



الشـكل 8-25: طريقـة الفحـص الفلورسـني لقـراءة تسلسـل تـرددات نيوكليوتيـدات حـامض نـووي DNA معـين. إن كـل تفاعـل يحتـوي علـى طـرف مضـيء فلورسـني ذي لـون معين لـذلك فإنـه يمكـن الحصـول علـى

أشـرطة موسـمة بـالطرف المضــيء اعتمـاداً علـى القاعـدة المسـتخدمة فـي التوسيم وتقرأ النتائج آلياً بواسطة الحاسوب.

تفاعل سلسلة البوليميرز Polymerase Chain Reaction (PCR):

لقد استعيضـت عمليـة تضـخيم قطـع الــDNA معينـة أو مورثـات معينـة التــي كانـت تجـري بـربط هـذه القطـع مـع بلازميد أو عـائي ثـم مضـاعفتها داخـل البكتيريـا بطريقـة جديـة كليـاً وهـي تفاعـل سلسـلة البـوليميريز PCR. وأصبح الآن وباستخدام هذه الطريقة تضخيم المورثات إلـى ملايين النسخ دون الحاجة إلى اتباع أسلوب الكلونة العام.

يعتمـد هـذا التفاعل علـى وجـود نسـخ مفـردة مـن تـردد الــDNA المـراد تضـخيمه إضـافة إلـى بادئـة خاصـة بـه وأنـزيم بلمـرة DNA. يعتبـر أنـزيم البلمرة Taq من أفضل الأنزيمات المستخدمة في هذه العملية نظـراً لقابليتـه العالية على البلمرة بدرجات حرارة عاليـة واسـتقراريته بـدرجات الحـرارة التــي تتـراوح بـين 94-95مْ المسـتخدمة فـي فصـل الأشـرطة المزدوجـة. وأصبح إجراء هذا التفاعل لا يحتاج الكثير من الجهود نظراً لتوفر الإنـزيم والبفر إضافة لأنواع مختلفـة مـن البادئـات التـي تناسـب تضـخيم عـدد كبيـر من المورثات. والأكثر من ذلك توفر الأجهـزة الكهربائيـة التـي تعمـل ذاتيـاً بحيـث أن عمليـة التضـخيم لا تحتـاج سـوى تحضـير التفاعـل ووضـعه فـي الجهاز بعد برمجته ليعمل بعد ذلك ذاتياً في توفير ظـروف التفاعـل وفصـل الأشرطة المزدوجة.

وأصـبحت حساسـية هـذا التفاعـل عاليـة جـداً حيـث يمكـن إجـراءه علـى نسخة واحدة فقط كقالب. كما يمكن اسـتخدامه لتضـخيم قطعـة DNA معينـة فـي خليـة واحـدة كمـا يحصـل فـي تحديـد جـنس الجنـين أو اسـتخدامه فـي التضخيم على التحضيرات النسيجية مباشرة.

ونتيجـة لأهميـة هـذا التفاعـل أصـبح مـن التفـاعلات المهمـة التـي يجـب توفيرها في جميع مختبرات الوراثة الجزيئية والهندسة الوراثية.

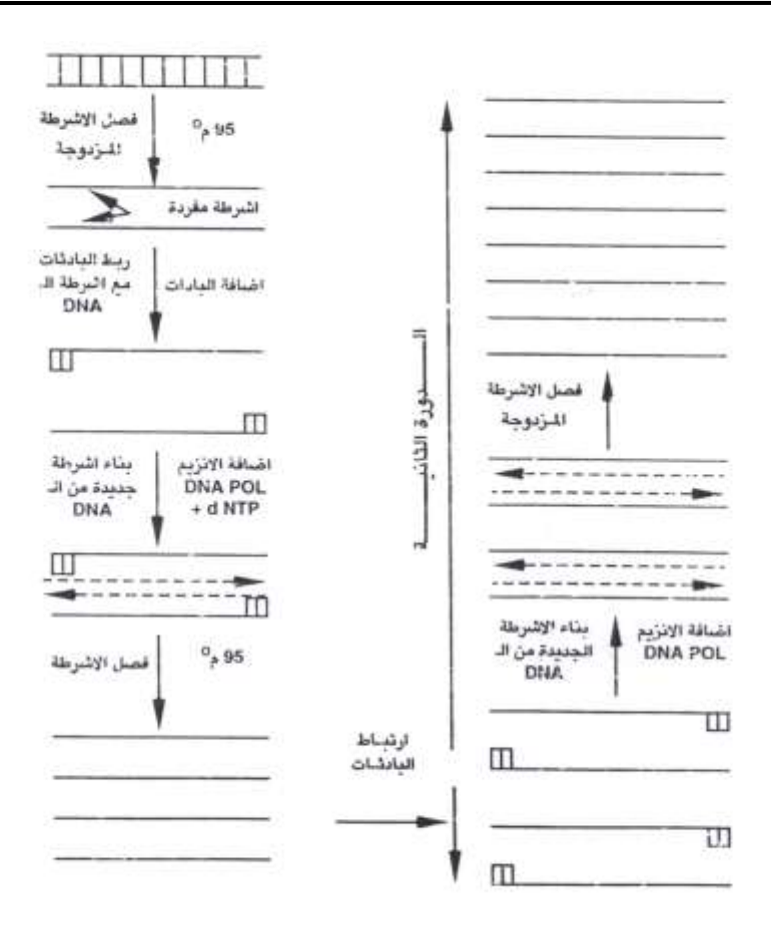
تضخيم الـDNA بتفاعل PCR:

كمـا قلنـا سـابقاً فـإن هـذا التفاعل يسـتهدف تضـخيم قطعـة DNA معينـة. لذلك فـإن هـذا التفاعـل يحتـاج إلـى قالـب مفـرد مـن شـريط الــDNA وبادئـة

معينة إضافة للأنزيم Taq وبفره والنيوكيوتيدات المعروفة dNTP وتوفير ظروف معينة.

يبدأ التفاعل بالتصاق البادئات في النهايات الثالثة والخامسة في الموقع المطلوب تضخيمه ثم بدء عملية بناء نسخ للموقع المطلوب عن طريقة إضافة النيوكليوتيدات إلى البادئات وربطها مع بعضها, في نهاية الدورة الأولى من التفاعل فإنه سينتج لدينا أشرطة مزدوجة في الموقع المعين. لذلك فإنه يجب فصل هذه الأشرطة للحصول على أشرطة مفردة مرة أخرى. يتم ذلك عن طريق استخدام درجات حرارية عالية 94-95م لفترة محددة يتم بعدها تخفيض درجة الحرارة المناسبة لبدء تفاعل البناء مرة أخرة لإنتاج أشرطة جديدة وهكذا. وفي كل مرة يتم فيها التفاعل وثم فصل الأشرطة تتضاعف عدد نسخ الموقع حتى الحصول على العدد المطلوب اعتماداً على عدد دورات التفاعل (شكل 8-26).

في حالة الحاجة إلى الحصول على مجس موسم إشعاعياً فإنه يضاف نيوكليوتيد واحد أو أكثر موسم إشعاعياً (^{32}L dCTP مثلاً). يدخل النيوكليوتيد الموسم إشعاعياً في التفاعل معطياً أشرطة تمثل الموقع المعني ولكنها موسم إشعاعياً.



الشكل 8-26: تخطيط لدورتين من دورات تفاعل PCR.

تشخيص الأمراض الوراثية بطرق الوراثة الجزيئية:

إن معظم التحليل الوراثي الجاري الآن لتشخيص الأمراض الوراثية أو لتحديد فرص الإصابة بهذه الأمراض أو تشخيص الحاملين لصفة هذه الأمراض من الآباء يعتمد أساساً على طرق الوراثة الجزيئية التي أثبتت بأنها طرق فعالة ومؤكدة لتحديد هذه الأهداف.

تستخدم في المختبرات الطبيعية المتقدمة عدة طرق للتشخيص الوراثي المرتبط مع بعض الأمراض والتناذرات والتشوهات الخلقية ومن أهم هذه الطرق:

1-استخدام الإنزيمات القاطعة أو المقيدة لتحديد وجود طفرة وراثية أو حذف (RFLPs).

2-استخدام مجسات وراثية خاصة بكل مرض أو تناذر لتحديد وجود عيب وراثي معين.

3-استخدام الطرق المناعية لتحديد بروتين معين مرتبط وجوده أو عدم وجوده بمرض معين.

4-تحديد موقع مورث معين مباشرة على الكروموسومات.

ولأجل توضيح كيفية الاستفادة من هذه الطرق فإننا سنتطرق لأمثلة على استخدام هذه الطرق في التشخيص.

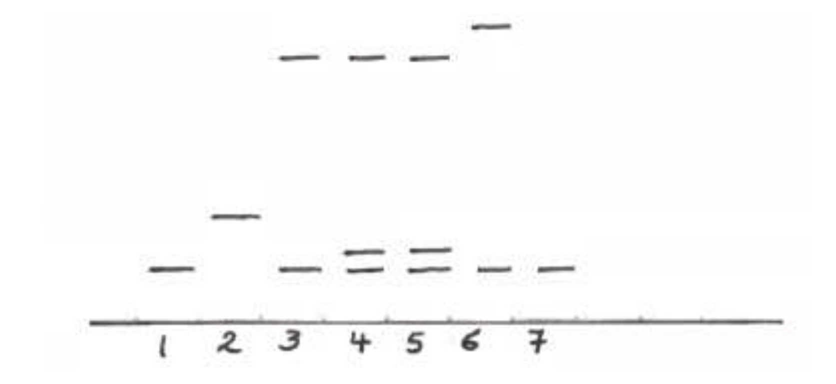
أولاً: استخدام الإنزيمات القاطعة لتحديد طفرة وراثية أو حذفها:

إن التطور التكنولوجي الهائل في مجال علوم الحياة والكيمياء الحيوية ساعد كثيراً في تحديد واستخلاص العديد من المورثات وشمل ذلك الكثير من المورثات أو محاورها المسؤولة عن بعض الأمراض الوراثية.

إن استخلاص هذه المورثات من مجموع المادة الوراثية جعل من السهل على الباحثين على وضع خريطة وراثية لهذه المورثات وتحديد مواقع القطع وعددها لكثير من الإنزيمات القاطعة أو المقيدة وهو ما وفر خريطة إنزيمية طبيعية لكل مورث.

إن وجود مثل هذه الخريطة يساعد كثيراً في اكتشاف حالات الطفرة الوراثية أو الحذف أو الزيادة التي يمكن أن تحصل لسبب ما في مورث معين لشخص معين (شكل 8-27 وشكل 8-28). إن استخدام الإنزيمات القاطعة من النوع الثاني يوفر خريطة ثابتة لكل مورث وعند حصول حالة مرضية مرتبطة مع مورث معني فإنه من اليسير مقارنة الخريطة الإنزيمية للمورث غير الطبيعي عند استخدام إنزيم قطع محدد مع الخريطة الطبيعية للمورث عند استخدام نفس الإنزيم.

إن الطفرات الوراثية أو الحذف أو الزيادة التي يمكن أن تحصل في مواقع قطع الإنزيمات المقيدة تؤدي إلى غلق موقع أو أكثر من مواقع القطع على المورث أو قد تؤدي إلى فتح مواقع جديدة وهو ما يؤدي إلى الحصول على بعض قطع المورث بحجم غير طبيعي مقارنة بحجوم قطع المورث الطبيعي عند تقطيعها بنفس الإنزيم أو فقدان بعض القطع بسبب وجود حذف في المورث غير الطبيعي ويسمى ذلك Restriction fragments Length polymorphism (RFLPs).



شكل 8-27: مخطط لتحليل جزيئي لسبعة أفراد من عائلة تتوارث تناذر كروموسوم X الهش.

استخدام الإنزيمات EcoR1 و Ec1x1 لتقطيع نماذج الـDNA لأفراد هذه العائلة.

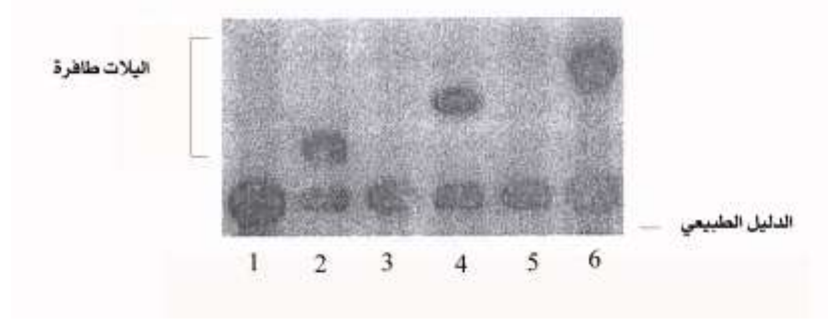
-النموذج (1) ذكر طبيعي.

-النموذج (2) أب حامل للصفة

-النموذج (3) بنت طبيعية

-النموذج (4) و (5) بنات حاملات لصفة المرض.

-النموذجان (6) و(7) بنات مصابة بالمرض.



شكل 8-28: التحليل الوراثي الـDNA عائلة مؤلفة من ستة أفراد يتوارثون مرض العضلات myotonic Dystrophy

-النماذج (1) و(3) و(5) تعود لأفراد طبيعيون.

-النماذج (2) و(4) و(6) تعود لأفراد مصابون بالمرض.

ثانياً: استخدام المجسات الوراثية الخاصة:

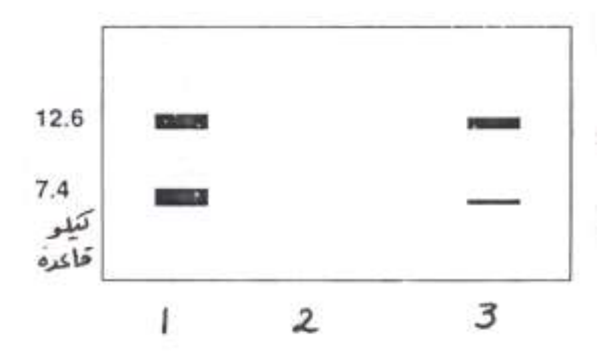
يتوفر الآن العديد من المجسات التي تستخدم لاقتضاء أثر مورث معين أو عيب وراثي معين. فمثلاً يمكن استخدام مورثات الجلوبين الفا وبيتا أو محاورهما لتحديد الإصابة بالثلاسيميا أو حمل صفتها أو حتى نوع الثاسيميا. ففي الثلاسيميا الفا تؤدي الصفرات الوراثية التي تحصل في مورثات الجلوبين الفا إما إلى اختفاء وعدم إنتاج الجلوبين بسبب الحذف الكامل لمورثات الجلوبين الفا على كل من كروماتيدي كروموسوم 16(α^o) أو حصول حذف لاليل واحد –أو طفرة لاليل واحد بينما يبقى الآخر طبيعي وهو ما يؤدي إلى انخفاض في إنتاج الجلوبين (α^+) ويمكن التمييز بين الحالتين وذلك باستخدام مورث الجلوبين الفا كمجس موسم إشعاعياً أو فلورسنياً حيث يفشل المجس في الارتباط في حالة الثلاسيميا α^o.

كما يمكن استخدام مجس الجلوبين بينا للتمييز بين حالتي الثلاسيميا β^o و β^+ (شكل 8-29 وشكل 8-30).

وتشخيص الإصابات بفقر الدم المنجلي (شكل 8-31) أو الهيموفيليا (شكل 8-32).

مثال آخر على استخدام مجس لتحديد حذف أو طفرة وراثية وهو مرض هنتجتون Huntigton,s disease.

يقع المورث المسؤول عن هذا المرض الذي تظهر أعراضه متأخرة بعد سن الثلاثين على الذراع القصير لكروموسوم 4. يستخدم الآن نوعان من المجسات لتحديد وضع هذا المورث في حالات الاشتباه بالإصابة بالمرض وهما المجس G8 والمجس CAG.

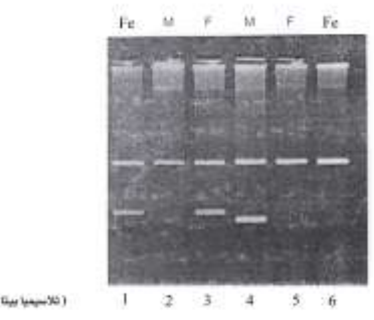


شكل 8-29: استخدام الإنـزيم القـاطع BgLII والمجس مـورث بيتـا جلوبين لتحديد الإصابة بالثلاسيميا B

-النموذج (1) فرد طبيعي.

-النموذج (2) فرد مصاب بالمرض (حذف كامل).

-النموذج (3) فرد حامل لصفة المرض.



شكل 8-30: تحديد الطفرات الوراثيـة (A+G)IVSI-110, CD-39 في الشفرة الوراثية 39 لمورث البيتاجلوبين.

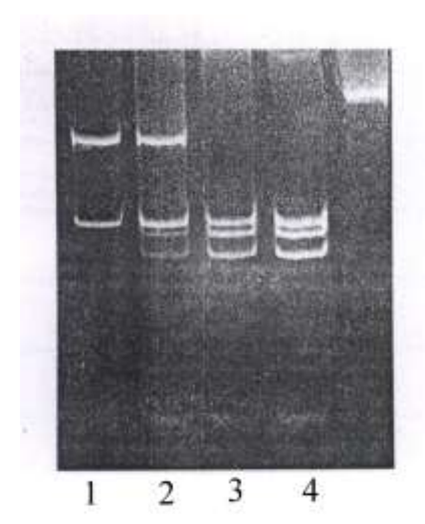
-النموذج (1): جنين (Fe) هجين للطفرة CD-39.

-النموذج (2): ألام طبيعية (M) (عدم وجود الطفرة CD-39).

-النموذج (3): الأب حامل لصفة الطفرة CD-39 (F).

-النموذج (4): الأم حاملة (هجينة) للطفرة IVSI-110.

-النموذج (6)، (5): النماذج طبيعية/ عدم وجود الطفرة IVS 1-110.

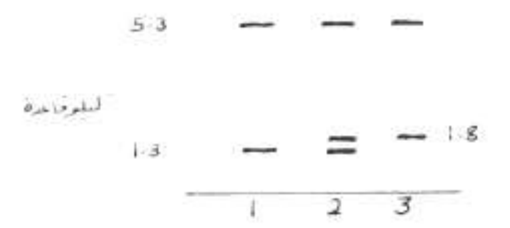


شكل 8-31: التحليل الجزيئي لجز
البوليميريز PCR لمورث الجلوبين- بيتا

-النموذج (1) لمصاب بفقر الدم المنجلي (طفرة نقية).

-النموذج (2) لمصاب بفقر الدم المنجلي (طفرة هجينة) (اليل طافر مفرد).

-النموذج (3) و(4) لأفراد طبيعيون.



شكل 8-32: تخطيط لتحليل وراثي جزيئي لثلاثة أفرد لتحديد الإصابة بالهيموفيليا B (Factor 1X).

-النموذج (1): طبيعي

-النموذج (2): أنثى حاملة للطفرة

-النموذج (3): ذكر مصاب بالمرض

يؤدي استخدام المجس G8 مع الحامض النووي DNA للمصابين المعامل بالأنزيم القاطع Hind3 إلى الحصول على أربعة أنواع من طرز حزم الـDNA سميت A وB وC وD وأن الأفراد المصابين لا بد من أن يكون طراز الحزم لديهم أما AA أو AC أو CD أو AD الشكل.

كما شخص حديثاً بأن حصول طفرات وراثية في المورث المسؤول عن مرض هنتيجتون يؤدي إلى زيادة تكرار التردد CAG.

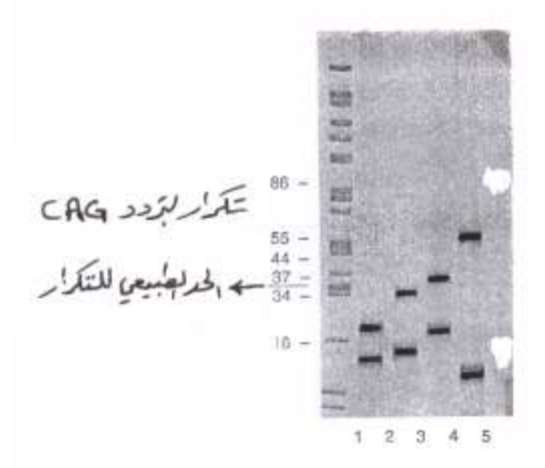
فقد وجد بأنه في الحالات الطبيعية (97%) فإن تكرار هذا التردد يبلغ حوالي 28 مرة مقارنة مع تكرار 37-80 مرة في حالة الإصابة بالمرض (شكل 8-38).

أما في مرض الدوتشان وبيكر اللذان يسببان ضمور العضلات فإنه يستخدم الآن ثلاثة مجسات لتحديد الحذف أو الطفرة الوراثية الحاصلة في

مورث الدستروفين الذي يقع على كروموسوم X وهذه المجسات هي CD وP20 وPERT 87-15 (الشكل 8-34).

كما يستخدم العديد من المجسات في تشخيص الطفرات الوراثية المرافقة لأمراض وراثية عديدة مثل التليف الكيسي وتناذر دوان وتناذر كروموسم X الهش وتضخم الأدرينال الخبيث Adrenal hyperplasia وغيرها. (شكل 8-35 وشكل 8-36 وشكل 8-37).

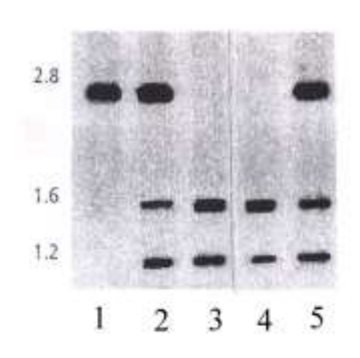
أن استخدام المجسات الخاصة لتحديد الحالات الوراثية غير الطبيعية ليس بالكفاءة العالية بحيث يتم الاعتماد عليه تماماً. ولذلك فإن معظم فحوصات المجسات الخاصة تترافق دائماً مع استخدام هذا التفاعل بوجود بادئات خاصة لبناء جزيئات متكررة للمورث المطلوب فحصه حصراً وثم يتم بعد ذلك تنقية هذه الجزيئات واستخلاصها ثم تهجيرها كهربائياً عبر هلام أو معاملتها بأنزيم قاطع معين ثم تهجيرها كهربائياً عبر هلام ثم استخدام مجسات خاصة لتحديد الطبيعية الوراثية لها.



شكل 8-33: تضخيم التردد CAG بتفاعل PCR لمجموعة من الأفراد وتهجيرها كهربائياً عبر هلام البولي اكرليمايد والمجس CAG.

-النموذج (1) و(2) التكرار الطبيعي للتردد CAG.

-النموذج (3) و(4) و(5) تكرار غير طبيعي للتردد CAG عند أفراد مصابون بمرض هينتجتون.

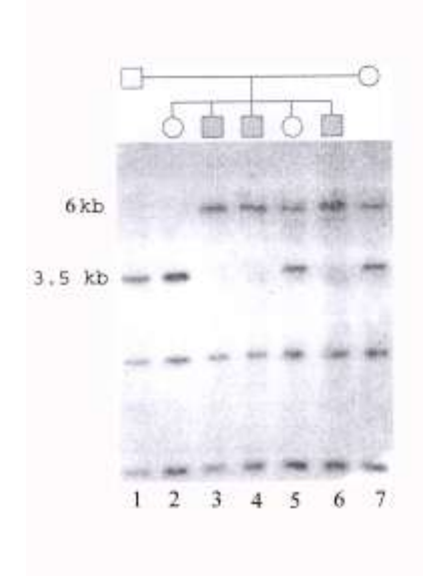


شكل 8-34: التحليل الجزيئي لـDNA خمسة أفراد من عائلة تتوارث الإصابة بمرض ضمور العضلات-دوتشان وذلك باستخدام الإنـزيم Taq 1 والمجس XV-2C.

-الأم (3) والابنة (4) حاملين للطفرة الوراثية.

-الأب (5) والابنة (2) طبيعيان.

-الابن (1) مصاب بالمرض.

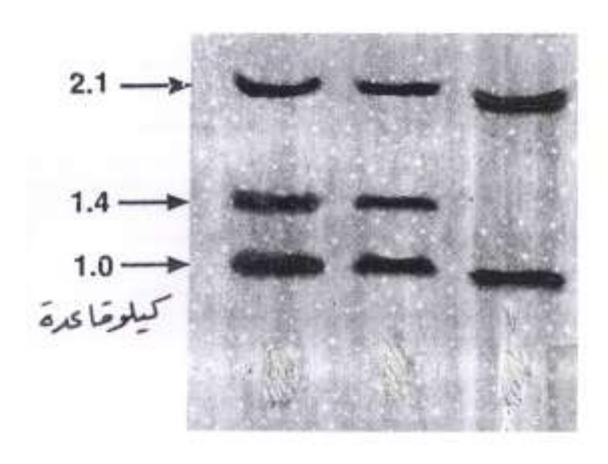


شكل 8-35: التحليل الجزيئـ
بعض أفرادها مرض تضخم الادر
وذلك باستخدام الإنزيم Msp1 والمـ

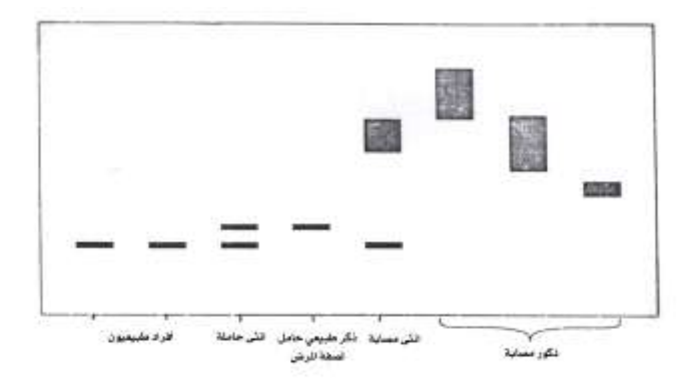
-الأب (1) والبنت (2) طبيعيا

-الأولاد (3) و(4) و(6) مصا

-الأم (7) والبنت (5) حاملتين



شكل 8-36:   التحليل الجزيئي لـDNA ثلاثة أفراد مصابون بالتليف الكيسي Cystic fibrosis عند استخدام الأنزيم PST+1 والمجس XV-2C حيث يلاحظ وجود الحزمة 2.1 كيلو قاعدة عندما يكون هناك مورث CF طافر.



شكل 8-37:   استخدام المجس CGG لمعرفة تكراره في DNA عدة أفراد بعضهم مصاب بتناذر كروموسوم X الهش.

ثالثاً: استخدام الطرق المناعية:

في هذه الطرق يتم استخدام أجسام مضادة Antibodies موسمة (فلورسنية) للبحث عن وجود بروتين معني من عدمه. فمثلاً تستخدم الأجسام المضادة للبحث عن وجود بروتين الدستروفين للتمييز بين مرض دوتشان ومرض بيكر اللذان يصيبان العضلات بالضمور حيث يكون

الفحص سالباً في عينات مرضى دوتشان وموجبة ضعيفة في عينات مرض بيكر وذلك لعدم إنتاج بروتين الدستروفين عند مرضى دوتشان بسبب الحذف الكامل لمورث الدستروفين بينما يحمل المصابون لمرض بيكر اليلاً طبيعياً وآخر محذوف، كما تستخدم طرق الهجرة الكهربائية للبروتينات لنفس الغرض.

رابعاً: تحديد موقع مورث مباشرة على كروموسوم:

يمكن تحديد موقع مورث ما على كروموسوم لمعرفة أية تغيرات يمكن أن تكون قد حصلت على موقعه. يتم أولاً تحضير تجمعات كروموسومية كاملة على شرائح زجاجية كما سبق توضيحه في مقدمة هذا الفصل ثم تهجين بعد ذلك بمجس معين وبعد الانتهاء من العمليات المرافقة لذلك تصبغ الكروموسومات بصبغة جمز G- banding أو FISH ثم تفحص تحت المجهر حيث يظهر موقع المورث على الكروموسوم على هيئة نقطة سوداء أو فضية ويمكن بعد ذلك مقارنة هذا الموقع مع الموقع الطبيعي للمورث لمعرفة أية متغيرات غير طبيعية.

في حالات طبيعية كثيرة يتطلب الفحص الجزيئي للكروموسومات استخدام أجزاء من المورثات كمجسات ولذلك يتوفر الآن العديد من محاور المورثات التي يمكن استخدامها كمجسات لتحديد حالات الحذف خصوصاً حيث لا تظهر البقع السوداء في حالة وجود الحذف.

فمثلاً يستخدم المحور 47 لمورث الدستروفين كمجس لتحديد وجود الحذف في هذا المحور عند الإناث الحاملة لطفرة مرض دوتشان حيث يظهر وجود بقع فضية أو سوداء على كروموسوم X واحد (الطبيعي) بينما لا يحمل الكروموسوم الآخر أية بقع سوداء دلالة على وجود الحذف فيه.

كما أن طريقة فحص الكروموسومات المباشرة دون مجس (صياغة فقط) مفيدة جداً في تحديد الإصابة بمرض كروموسوم X الهش أو الثلاثيات أو الانتقالات الكروموسومية.


الفصل التاسع
الوراثة والسرطان

الفصل التاسع
الوراثة والسرطان

مقدمة:

عُرف السرطان منذ زمن طويل حيث وصف في الصور والكتابات القديمة التي تركتها الحضارات الإنسانية في العراق وسوريا ومصر وأمريكا اللاتينية وربما غيرها من المناطق. ويعتبر سرطان العظام الذي شخص في مومياء مصرية أول حالة سرطان مشخصة تعود لآلاف السنوات السابقة. ومع بعد المسافة بين زمن المومياء المصرية المصابة والقرن الحالي فإن السرطان لا يزال يمثل المرض الثاني المسبب للوفيات بعد أمراض القلب والأوعية الدموية.

اقترن اسم السرطان بهذا المرض لانتشاره بطريقة مشابهة لشكل السرطان البحري حيث تنشأ في وسط الورم كتلة تمتد منها تفرعات تشبه أرجل الحيوان البحري.

ينشأ السرطان غالباً من نمو خلية واحدة على الأرجح تفقد السيطرة على أيضها البايولوجي وانقسامها الخلوي وتبدأ بالإنقسام السريع الذي يؤدي إلى نشوء كتلة سرطانية في هذا الموقع.

لا يلبث النسيج أن يحفز الأوعية الدموية القريبة منه على توليد شبكة دموية خاصة به (التكوين الوعائي angiogenesis) تعمل على تغذيته ورعايته.

ترجع قدرة السرطان على تحفيز الجسم على رعايته لأسباب عديدة منها أن النسيج السرطاني هو نسيج جسمي لا يزال يحمل الشفرات المناعية وهي أنواع من الأجسام المناعية التي تدعى بمعقدات التطابق النسيجي الرئيسية (MHC Histocompatibility Complex) Major اللازمة للتعامل معه على أنه نسيج ذات Entity وهو ما يمنع خلايا المناعة من مهاجمته. إلا أنه لا تلبث أن تتغير الشفرات المناعية لخلايا السرطانية ويبدأ الجسم في مقاومته وغالباً ما تنشأ المقاومة بصورة متأخرة بعد أن يكون السرطان قد تمكن من الجسم وهو ما يجعل الجسم في سباق مع السرطان ونادراً ما يفوز الجسم البشري في هذا السباق. هذا إضافة إلى أن التغييرات البايولوجية التي تحصل في الخلايا السرطانية تساعدها في إفراز أنزيمات محفزة على نشوء شبكة الأوعية الدموية. أثمرت نتائج الأبحاث العلمية التي أجريت لسنوات طويلة وفي أماكن مختلفة من العالم عن إماطة اللثام عن العديد من مظاهر السرطانية وتفاصيل بايولوجية تجري داخل خلاياه. إلا أنه لم يتم لحد الآن تشخيص الأسباب الحقيقية لظهور السرطان. إلا أن هذه الأبحاث زودتنا بمعلومات

واسعة عن السرطان وساهمت الكيمياء الحيوية الوارثة الجزيئية في توفير معلومات مفصلة عن الدور الوراثي في هذا المرض. أعلن خلالها العلماء وجود مورثات معينة يؤدي الإضرار بها إلى تحويلها إلى مورثات ذات تأثير ضار على الخلايا تسمح بتحويل الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية. سميت هذه المورثات بالمورثات السرطانية الابتدائية أو الخلوية Proto- oncogenes وشخصت كمورثات منشطة تنشيطاً غير طبيعي في أنواع مختلفة من السرطانات.

نظريات نشوء السرطان:

كرس العلماء الكثير من جهودهم في سبيل فهم طبيعة السرطان وأسبابه ونشرت في سبيل ذلك لآلاف من الأبحاث العلمية التي استهلكت مبالغاً طائلة في سبيل إنجازها توصل خلالها العلماء إلى وضع عدد من النظريات التي تفسر نشوء السرطان وكذلك انتشاره ويمكن إيجازها كالتالي:

النظرية الأولى: النظرية الكيميائية والفيزيائية:

وجد بأن هناك علاقة وثيقة بين التعرض للعوامل الكيميائية والفيزيائية والإصابة بالسرطان حيث تزداد نسبة إصابة الأشخاص المعرضين لهذه العوامل بالسرطان أكثر بكثير من الأفراد الآخرين. فسرطان الرئة يرتبط غالباً بالتدخين وسرطان الخصية يرتبط مع العاملين بتنظيف المداخن وسرطان الدماغ يرتبط مع المواد المستخدمة في صباغة السيارات وغيرها. كما لا يخفى دور العوامل الفيزيائية مثل الإشعاعات الذرية والأشعة فوق البنفسجية والأشعة الكونية وأشعة أكس وغير ذلك في نشوء أنواع مختلفة من السرطان خصوصاً اللوكيميا.

يمكن تقدير خطورة المواد الكيميائية وقدرتها السرطانية من خلال فحص كيميائي يدعى بـ(فحص أيمز) سبق الحديث عنه ويزداد عدد المواد الكيميائية المسببة للسرطان كل يوم كما تزداد حالات الإصابة بالسرطان باستمرار تلوث البيئة والمزرعات والحيوانات والماء وكل شيء. تفترض هذه النظرية أن العوامل الكيميائية والفيزيائية تعمل على تدمير أو إحداث تغييرات وراثية تؤدي إلى فقدان الخلايا المعرضة لهذه العوامل لسيطرتها على الأيض المرتبط مع الانقسام الخلوي. وقد أثبتت الأبحاث العلمية هذه النظرية وتعتبر من أكثر النظريات رواجاً في تفسير نشوء السرطان وسنأتي على تفصيل أهميتها لاحقاً.

النظرية الثانية: النظرية الجرثومية:

تستند هذه النظرية إلى الملاحظات العلمية التي نشرت حول إصابة الدواجن وحيوانات أخرى بالسرطان نتيجة لإصابتها بأنواع مختلفة من الفايروسات. وقد سجل وجود أنواع مختلفة من الأضداد في دماء الحيوانات المصابة بهذه الفايروسات. وتفترض هذه النظرية اعتماداً على ذلك نشوء السرطان البشري بنفس الآلية ومن المعروف بأن هناك العديد من الأنواع الفايروسية لها القدرة على غزو جسم الإنسان وترتبط بعض أنواع السرطان مع هذه الفيروسات وخصوصاً تلك التي تنتمي لمجموعات الفيروسات المرتدة أو القهقرية Retovruses فمثلاً يرتبط سرطان بيركت Lymphome Burkitts مع الإصابة بفايروس ابستين –بار وكذلك السرطانات التي تصيب الحنجرة والبلعوم. فيما ترتبط سرطانات أخرى مثل سرطان كابوسي مع فايروس الإيدز وسرطان الكبد مع فايروسات التهاب الكبد وغيرها الكثير. وسنتكلم عن دور الفايروسات في الإصابة بالسرطان بتفصيل في الفقرات اللاحقة من هذا الفصل.

النظرية الثالثة: نظرية النكوص:

تعتمد هذه النظرية على حقيقة علمية معروفة وهي أن الخلايا الجنينية تنقسم بسرعة تقارب وربما تزيد كثيراً عن سرعة انقسام الخلايا السرطانية وتؤدي إلى تكوين كتل كبيرة أيضاً من الخلايا. وعلى الرغم من الاختلاف الجوهري بين طريقتي نمو الخلايا السرطانية والجينية وأهدافها ونتائجها ولكنهما من الناحية الانقسامية المجردة متماثلين.

يعتقد أصحاب هذه النظرية بأن الخلايا السرطانية ما هي إلا حالة نكوص الخلايا الناضجة المتخصصة نحو المرحلة الجنينية. لقد برهنت الأبحاث العلمية الحديثة إلى وجود دور كبير للمورثات التي تعرف بالمورثات السرطانية الخلوية أو الابتدائية C-onocgenes في المراحل الانقسام في الخلايا الجنيية وأنه يتم التعبير عن هذه المورثات بمستويات عالية أثناء المرحلة الجنينية لما لهذه المورثات من دور في قيادة وإسراع الانقسامات الخلوية وهو ما يماثل ما يحصل في الخلايا السرطانية التي ترتبط غالباً مع وجود مورث أو أكثر ذو نشاط عالي غير طبيعي يماثل نشاطه في المرحلة الجنينية. وسنفصل ذلك في فقرات أخرى.

العوامل التي تساعد على الإصابة بالسرطان:

مـع التقدم التكنولـوجي الكبيـر فـي الأدوات والأجهزة العلميـة إلا أنـه لا يعرف لحد الآن السبب المباشـر للإصـابة بالسـرطـان ولكـن هنـاك عـدد مـن العوامل التي يمكن أن تعلب دوراً مهماً في الإصابة ومنها:

1- التدخين.
2-الكحول.
3-الغذاء الملوث.
4-التعرض للمواد الكيميائية.
5-التعرض للمواد الفيزيائية كالإشعاعات.
6-الإصابة بالفايروسات وعوامل مرضية متعددة أخرى.
7-الاختلالات الهرمونية.
8-العمر والجنس والاستعداد الوراثي وغيرها.

ولسـنا هنـا فـي صـدد الحـديث عـن هـذه التـأثيرات مـن الناحيـة الطبيـة ولكـن سنوضـح دور بعضـها فـي سـباق حـديثنا عـن بايولوجيـة السـرطان وتفصيلاته الوراثية.

المورثــات الســرطانية الابتدائيــة والفايروســية Oncogenes and C-V- Oncogenes

تعـود معرفتنــا بالمورثــات الســرطانية الفايروســات المرتــدة إلــى فتــرة الستينات إلا أنه لم يعرف التركيب الجزيئي والدور الدقيق لهـا إلا بعد عشـرة سنوات من ذلك و أكثـر. وفـي عـام 1976 اكتشفت ترددات لمورثـات خلويـة مماثلـة لترددات المورثـات السـرطانية الفايروسية في خلايـا سـرطان محفـز بعوامـل كيمياويــة سـميت تلــك المورثــات بالمورثــات الســرطانية الخلويــة Cellular Oncogenes أو الابتدائيـــة Protooncogenes. شخصـــت الآن المورثات السرطانية الخلوية في جيع الخلايـا الحيوانيـة والنباتيـة ويعتقد بـأن المورثات السرطانية هي مورثـات سرطانية خلويـة تمكنت الفايروسـات مـن الحصـول عليهـا مـن الخلايـا بعد تكرار إصـابتها لألاف مـن السنين وعملت خلال ذلك على تحويرها لتتناسب.

إن نتائج العديد من الأبحاث العلمية التي أجريت على نماذج مختلفة من الحـامض النـووي DNA المسـتخلص مـن كائنـات حيـة متنوعـة بينـت بـأن جميع الأحياء تمتلك المورثات السرطانية الخلويـة وأن هنـاك تمـاثلاً كبيـراً في تردداتها مع تلك الموجودة في الفايروسات مما يؤكد بأنها جميعاً مشتقة من أصل واحد.

إن تـرددات مـورث سـرطاني خلـوي معين يمكـن أن يكـون متمـاثلاً فـي أنواع مختلفة من الأحيـاء وخصوصـاً تلك المتقاربـة وراثيـاً ولا يعنـي ذلك

بالضــرورة الحفــاظ علـــى تماثـــل فـــي أنـــواع أخـــرى مـــن المورثـــات السرطانية الخلوية.

فمثلاً المورث C-myc السرطاني الخلوي متماثل في التركيب العام لمحاوره ومتداخلاته في الطيور واللبائن. إلا أن مورثاتهما C-myc وC-ras مختلفة تماماً. كما يتشابه التركيب العام لمورثات العائلة ras السرطانية الخلوية في جميع أنواع الخمائر إلا أن تركيب هذه المورثات يتماثل جزئياً مع مورثات العائلة ras في اللبائن وبعض الفقريات الأخرى.

لقد ذكرنا سابقاً بأن الفيروسات اشتقت مورثاتها السرطانية من مصدر حيواني على الأغلب. توضح دورة حياة الفايروسات إمكانية حصول انتقال وراثي وبعض الأجزاء الوارثية الخلوية إلى الفايروسات.

تتضمن دورة حياة الفايروسات وخصوصاً تلك التي تلتحم مع المادة الوراثية للخلايا المصابة (الفايروس الأولي Provirus) فرصة كبيرة لحصول مثل ذلك الحدث. إذ أن الفايروس الأولي يمكن أن يلتحم عشوائياً مع المادة الوراثية للخلايا المصابة وعليه فإن من المحتمل أن يجاور الفايروس الأولى مورثاً سرطانياً خلوياً وبعد تضاعف الفايروس لعدد من الدورات ينفصل من مادة الخلية الوراثية وغالباً ما يأخذ الفايروس الأولي معه أجزاء من المادة الوراثية الخلوية تختلف في أحجامها.

فإذا ما كانت الأجزاء المتقطعة تعود لمورث سرطاني عندها يحصل الفايروس على جزء ربما يكون كافياً من المورث السرطاني الخلوي ويضمه إلى هجينه. إن فرصة حصول الاقتطاع الوراثي لمصلحة الفايروس غير قليلة حيث أن الخلايا عادة تهاجم بأعداد كبيرة من الفايروسات وتتوزع بعد دخولها على المادة الوراثية للخلايا. أن هناك العديد من الأدلة العلمية التي تؤكد حصول مثل تلك الفرصة للفايروسات. فقد وجد بأن هناك DNA خلوي متراكب في النهايات الخامسة والثالثة للحامض النووي الفايروسي وشخصت أجزاء من المورث السرطاني الخلوي C-fps وCmy مرتبطة مع فايروسات. يمكن التعرف على وجود مثل هذا التراكب الوراثي من خلال تحليل الحامض النووي المرسال حيث أن الأجزاء المتراكبة تؤدي إلى إنتاج حامض نووي مرسال هجين يعود جزء منه لمورثات الفايروس بينما يعود الباقي لترددات خلوية. وقد وجد مثل هذا الحامض الهجين بعد إصابة الخلايا بالفايروس PRC2. إذ وجد

بأن الحامض النووي المرسال الهجين له بعد الإصابة يحتوي على ترددت تعود للمورث السرطاني الخلوي C-fps.

كما يعتبر التماثل بين تركيب المورثات السرطانية الخلوية وبروتيناتها والمورثات السرطانية الفايروسية وبروتيناتها دليلاً آخر على احتمالية حصول آلية التراكب الوراثي. لا يعني دائماً أن الإصابة بالفايروسات تعني حصول السرطان. كما أنه لا يمكن اعتبار أن كل إصابة بالفايروسات يمكن أن تؤدي إلى حصول الفيروسات على مورثات سرطانية خلوية حيث تدخل عوامل كثيرة في وجه مثل هذا الحدث.

وتحتاج الفايروسات لأقلمة المورثات الجديدة لآلاف من السنين قبل اعتبارها مورثات فايروسية ويلعب الانتخاب الطبيعي دوراً كبيراً في التحكم في مثل هذه الآليات.

إن تطور الأدوات والأجهزة وطرق البحث العلمي أدى إلى الكشف عن أعداد كبيرة من المورثات السرطانية الخلوية النظيرة لتلك الموجودة في الفايروسات السرطانية ويقارب عددها حتى اليوم المئة مورث يرتبط العديد منها أنواع معروفة من السرطان والبعض الآخر تحوم حول الشبهات.

وظائف المورثات السرطانية الخلوية والفايروسية:

إن وجود المورثات السرطانية الخلوية في جميع الخلايا الحية يؤكد أهمية هذه المورثات في نمو وتطور وتخصص الخلايا. درس العديد من هذه المورثات الخلوية منها والفايروسية ووجد بأنه يمكن وضع جميع هذه المورثات في خمسة مجاميع اعتماداً على وظيفتها وهي:

1-المورثات المشفرة لبروتينات النمو.

2-المورثات المشفرة لعوامل النمو.

3-المورثات المشفرة لمستقبلات عوامل النمو.

4-المورثات المشفرة لبروتينات تآصر جزيئات GTP.

5-المورثات المشفرة لبروتينات نووية.

المورثات السرطانية المشفرة لبروتينات الكاينيز المفسفرة:

إن جميع البروتينات المفسفرة المعروفة سابقاً تقوم بفسفرة البروتينات عن طريق إضافة الفسفور إلى الثيرونين أو السيرين مستخدمة في ذلك مجاميع الفرسفوريل في جزيئات الطاقة ATP وفي عام 1977 اكتشف لأول مرة بروتين يقوم بفسفرة التايروسين يعود إلى المورث Sre ويشفر

من قبله. ويبلغ الوزن الجزيئي للبروتين 60 كيلو دالتن ويرمز لها pcosrc.

يفرز هذا البروتين في الخلايا الطبيعية في مستوى منخفض مقارنة مع عشرة أمثاله في حالة إصابة الخلايا بفايروس Rous Sarcoma V. الذي يحتوي على النظير الفايروسي V-Src.

يرتبط البروتين pcosrc على السطح الداخلي للغشاء البلازمي للخلايا عن طريق ذبل من الأحماض الدهنية ويعتبر هذا الارتباط ضروري لقيامه بوظيفته حيث وجد بأن حصول طفرة وراثية في المورث V-Src الفايروسي والتي تؤدي إلى إحلال الجلايسين بدلاً من الجلوتامين أو الالنين يعمل على فقدان البروتين لقدرته على الارتباط مع الغشاء البلازمي للخلايا المصابة علاوة على فقدانه لقدرته السرطانية إلا أنه يحتفظ بقدرته على الفسفرة. ولا يعرف سبب ذلك إلا أنه يعتقد بأن وجود البروتين معلقاً في السطح الداخلي لغشاء البلازما ضروري لإنجاز مهام أخرى سرطانية أو نشيطة غير مكتشفة بعد يختلف البروتين p60 المشفر من المورث C-Src الخلوي عن نظيره المشفر من قبل المورث الفايروسي بعدد قليل من الأحماض الأمينية التي تقع في النهاية الكاربوكسيلية C-terminus. كما أنهما يختلفان في مستوى الفسفرة لديهما وقد يعزي ذلك لوجود المتكرر الطرفي الطويل Long terminal repeat مرتبط مع المورث الفايروسي والذي يعمل كمحفز قوي لتعبير المورث.

أوضحت نتائج الأبحاث العلمية التي أجريت حول دور هذه المورثات في نشوء السرطان إلى أن نشاط الفسفرة للبروتينات المشفرة من المورث Sec له أهمية في السيطرة على النمو ولا يؤثر ارتفاع مستوى البروتين إلى زيادة ضراوته حيث لوحظ بأن ربط المحفز الفايروسي RSV-LTR إلى المورث الخلوي C-Src عن طريق الهندسة الوراثية يزيد من قوة تعبير المورث Src مع احتفاظ البروتين Pco بمستوى فسفرة منخفض ولكنه لا يؤدي إلى تحول الخلايا المهجنة إلى خلايا سرطانية مما يدفع للاعتقاد بأن عملية نشوء السرطان عن طريق هذا المورث يتم بزيادة نشاط فسفرة بروتينية.

إلا أنه وجد بأن ربط المورث السرطاني الخلوي C-Src مع قطعة T الوسطى الخاص بفايروسات البوليما Polyoma middle Tsgment يؤدي إلى تكوين بروتين هجين له نشاطك فسفرة عالي جداً ومحفز سرطاني قوي.

ويعتقد الآن أن حدوث طفرة وراثية في الموقع 527 من المورث الخلوي C-Src والتي تؤدي إلى استبدال التايروسين بحامض أميني آخر في بروتينية المشفر تؤدي إلى فقدان هذا المورث لقدرته على السيطرة على وظائفه ووظائف بروتينية حيث أن التايروسين في الموقع 55 يمثل موقعاً منظماً وفقدانه يؤدي إلى الإبقاء على نشاط الفسفرة مفتوحاً. كما شخصت طفرات وراثية أخرى في المواقع 95 و378 و441 تؤدي إلى نفس النشاط غير الطبيعي لبروتين المورث C-Src.

وإضافة لما سبق فقد وجد بأن مستوى بروتين p60 يكون مرتفعاً في الخلايا الجنينية وخلايا السرطانات النسيجية (الخطوط النسيجية) التي تعود لسرطانات النيوربلاستوما والرتينوبلاستوما وسرطان ايونك وسرطان القولون إضافة لسرطانات أخرى.

تضم هذه المجموعة من المورثات إضافة للمورث C-Src مورثات أخرى مثل Yes وFps وRos وFgr وKit وabce وRaf وMos وتشفر جميع هذه المورثات لبروتينات فسفرة التايروسين باستثناء بروتينات raf وmos المفسفرة للثيرونين والسيرين على التوالي.

المورثات المشفرة لعوامل النمو:

تعتبر عوامل النمو من الجزيئات البايولوجية ذات التأثير الواسع على أيض الخلايا وتطورها وقد اكتشفت دور هذه العوامل في انقسام الخلايا مبكراً حيث وجد بأن إضافة مصل الدم الغني بهذه العوامل إلى المزارع النسيجية يؤدي إلى زيادة انقسام الخلايا ويختزل فترة انقسامها أيضاً.

وعلى الرغم من معرفة العديد من هذه العوامل مثل EGF وTFG وIGF-1 وIGF-2 وIL-1 وIL-2 وPDGF إلا أنه لم يتم إثبات علاقتها مع السرطان باستثناء العامل PDGF المشفر من المورث السرطاني الخلوي C-sis مع الاعتقاد بأنها جميعاً مشفرة من مورثات سرطانية خلوية.

يبلغ الوزن الجزيئي لعامل النمو PDGF المشفر من المورث الخلوي C-sis 4.2 دالتن ويعمل على مساعدة الصفائح الدموية في بناء التجلطات الدموية في مواقع الجروح وغيرها.

لقد وجد بأنه يتم التعبير عن العامل PDGF في عدد من حالات السرطان مثل الساركوما والجيلوبلاستوما Glioblastoma إلا أنه لم تثبت علاقته مع نشوء هذه السرطانات للآن. إلا أنه وجد بأنه يؤدي إلى تنشيط

المورث السرطاني الخلوي C-myc الذي يؤدي إلى زيادة بناء الحامض النووي DNA.

يختلف البروتين المشفر للمورث السرطاني الفايروسي V-sis كثيراً عن بروتين PDGF الخلوي حيث يبلغ الوزن الجزيئي للبروتين السرطاني 28 كيلو دالتن ويتألف من سلسلتين الفا وبيتا إلا أن له نفس نشاط البروتين الخلوي.

تأتي علاقة المورث sis بالسرطان من خلال قدرة الفايروس Simian Sarcoma V. الذي يحتوي على المورث السرطاني V-sis على تحويل الخلايا إلى سرطان بعد إصابته لها. كما يعتقد بأن لإنتقال الكروموسومي 9: 22 الذي يترافق مع سرطان اللوكيميا CML دور في تنشيط المورث C-sis الذي يقع على الكروموسوم البشري 22 إلا أنه يتم التأكد من هذا الدور.

المورثات المشفرة لمستقبلات عوامل النمو:

تحاط الخلايا بأغلفة غشائية تحتوي على العديد من المستقبلات الخلوية التي تساهم في نقل الإشارات المختلفة والتي تساعد الخلية في التفاعل مع محيطها وأداء وظائفها الخلوية بطريقة مناسبة لحياة الخلية والكائن.

لا تمتلك الخلايا جميع أنواع المستقبلات بل إن بعض هذه المستقبلات يتوزع بصورة متخصصة وعلى أنواع معينة من الخلايا. تعتبر مستقبلات النمو أحد أنواع المستقبلات التخصصية هذه. يؤدي هذا التوزيع المتخصص إلى تخصص الخلايا أيضاً. فهرمون الأنسولين على سبيل المثال يرتبط فقط مع الخلايا التي تحمل مستقبلاته وكذلك الحالة بالنسبة للهرمونات الأخرى وعوامل النمو المختلفة وغيرها. تؤدي عملية استقبال جزيئات عوامل النمو أو غيرها إلى تنشيط المستقبل الذي يعمل على إصدار إشارات ثانوية داخلية غالباً ما تكون مراسلات ثانوية تؤدي إلى تحفيز أيض معين أو عملية خلوية معينة.

إن العديد من مستقبلات عوامل النمو هي بروتينات كاينيز مفسفرة للتايروسين وترتبط مع مورثات سرطانية خلوية مشفرة لها. فمستقبلات عامل النمو EGF مشفرة من قبل المورث السرطاني الخلوي c-erbB ومستقبل عامل النمو CSE-1 مشفر من قبل المروث C-fms ومستقبل الأنسولين ومشفر من المورث C-ros. يعتبر مستقبل عامل النمو EGF

المشفر من المورث erb-B من أكثر المستقبلات دراسة وقد تم معرفة الكثير عنها ويمكن الخوض في تفاصيله كممثل لهذه المجموعة من المورثات.

اكتشفت علاقة مستقبل عامل النمو EGF مع المورث السرطاني الخلوي c-erb- B عن عرض الصدفة حيث لوحظ بأن تردد الأحماض الأمينية لهذا المستقبل تتشابه بصورة كبيرة جداً تصل إلى أكثر من 90% مع تردد الأحماض الأمينية في البروتين الفايروسي المشفر من قبل المورث السرطاني الفايروس V-erb-B الموجود في الفايروس (AEV) Avion reythroblastosis الذي يصيب الدواجن وحيوانات أخرى.

وقد بينت الدراسات اللاحقة حول هذا الموضوع بأن مستقبل عامل النمو EGF البشري مشفر فعلاً من المورثات السرطاني الخلوي C-erb B. إلا أنه وجدت اختلافات متعددة بين البروتين البشري والبروتين الفايروسي أهمها إلى أن الوزن الجزيئي لبروتين مستقبل النمو EGF البشري يبلغ 175 كيلو دالتن بينما يبلغ وزن النظير الفايروسي 80 ميلو دالتن ويرجع الفرق في ذلك إلى اختفاء المنطقة C (التي تتحكم في تعبير المورث السرطاني الخلوي البشري) في البروتين الفايروسي. كما وجد بأن النشاط السرطاني للبروتين الفايروسي يعود لهذا السبب حيث يبقى نشاط البروتين الفايروسي مفتوحاً مما يؤدي إلى استمرار تحفيز الخلايا دون توقف.

إن الوظيفة الرئيسية لمستقبل عامل النمو EGF في الخلايا البشرية هي استقبال جزيئات عامل النمو EGF ويؤدي الارتباط بين جزيئات عامل النمو مع مستقبلاتها إلى فتح نشاط فسفرة التايروسين في الجزء السايتوبلازمي من المستقبلات. ويعتبر ذلك إشارة لبدء العمليات اللازمة لهدف وصول جزيئات عامل النمو ويختفي نشاط هذا المستقبلات بعد انفصال جزيئات عامل النمو. يتوقف نشاط الفسفرة في السايتوبلازم ويعتبر الجزء C من بروتين المستقبل مفتاح السيطرة في هذه العملية. ونظراً لفقدان البروتين الفايروسي لهذا الجزء المنظم لعملية فتح نشاط الفسفرة وغلقها لذلك فإن المستقبلات الناتجة عن الفايروس تستمر في نشاطها حتى في غياب جزيئات عامل النمو مما يؤدي إلى حصول حالة السرطان واندفاع الخلايا نحو الانقسامات دون توقف.

أمـا فـي مسـتقبلات عامـل النمـو EGF البشـرية فـإن نشـاطها يتحـول إلـى نشـاط سـرطاني فـي ثلاثـة حـالات سـجلت فـي عـدة أنـواع مـن السرطانات البشرية.

أول هذه الحالات هو تضخم المورث C-erb-B الذي يؤدي إلـى ارتفـاع مستوى التعبير عنـه بسبب زيـادة عدد نسخ المورث عن العدد الطبيعـي. وقـد شـوهد تضـخم فـي هـذا المـورث يترافـق مـع سـرطان السـاركوما Adenosarcoma وسـرطان الجلـد Squamous cell carcinoma وسرطانات الغدد اللعابية واللبنية وبعض حالات سرطان المعدة. كما وجد بأن تضخم المورث C-erb-B يترافق دائماً مع حالـة تحـول سرطان الثدي إلى سرطان عدواني Aggressive cancer.

كما تم تشخيص تضخم هذا المورث في عدد الخطوط النسيجية مثل الخـط النسـيجي A431 المشـتقة مـن السـرطان Epidermoid carcinoma والخـط النسـيجي HN10 وHN5 المشـتقة مـن السـرطان Squamous Carcinoma.

إضـافة لـذلك فإنـه وجـد بـأن مسـتقبلات EGF تـزداد زيـادة كبيـرة علـى سـطح خلايـا السـرطان Glioblastomas وكـذلك فـي سـرطانات الرقبـة والرأس حيث بلـغ عددها حـوالي 5×10^{11} (معدل) مقارنـة مـع 1.5×10^{5} في خلايا الأدمة الطبيعية.

كمـا يـرتبط المـورث C-erb-B المشـفر لبـروتين المستقبل EGF بانتقـال كروموسومي يتضمن كروموسوم 7 منطقـة 7P11-P13 التـي تحمـل موقـع المورث فـي السـرطان Epidermoid caecinoma. إضـافة لمستقبل عامـل النمو EGF يرتبط مع حالة الانتقال الكروموسومي التـي تتضـمن الجـزء q من كروموسوم 5 الـذي يقـع عليـه المـورث fms مع السرطان Myeloid dysbtasia.

المورثات المشفرة لبروتينات تآصر **GTP**:

تشـمل هـذه المورثـات عائلـة واحـدة تـدعى عائلـة ras family مؤلفـة مـن ثلاثة مورثات هي -ras وN-ras وقد اكتشفت نظائر أخرى لهذه المورثـات حـديثاً مثــل ras-1 -K وK-ras2. توجـد نظــائر فايروســية للمورثـــات السرطانية الخلوية C-Hras وC-K-ras ولا يوجد نظير فايروسـي للمـورث الخلوي C-N-ras تشفر هذه المورثـات جميعاً لبروتين يبلـغ وزنـه الجزيئـي

21 كيلو دالتن يرمز له بـP^{21} يتألف من حوالي 189حامضاً أمينياً. يرتبط بروتين P^{21} مع جزيئه حامض دهني Palmitic acid مما يؤكد موقعه الغشاء الداخلي. يمتلك البروتين P^{21} نشاط GTPase حيث يعمل على شطر جزئيه GTP وإطلاق ذرة فوسفور لغرض ارتباطها مع المركب Pi-inositol Phosphatidy1 الذي يعمل كمرسال ثانوي داخلي لنقل الإشارات إلى مواقع التفاعلات الخلوية داخل السايتوبلازم. ونظراً للتماثل الكبير بين هذه البروتين والبروتين G النظير الخلوي في الخميرة فإنه يعتقد الآن بأن لهذا البروتين وظيفة أخرى مماثلة لوظيفة بروتين G إذ لم يكن يمثل هذا البروتين أصلاً في الخلايا البشرية (بروتين G مراسل ثانوي وله دور أنزيمي GTPase يدخل في دورة كربس).

يماثل البروتين P^{21} المشفر من قبل المورثات الفايروسية V-ras للبروتين الخلوي في وزنه الجزيئي إلا أنه يختلف عنه في النشاط. إذ يفتقد البروتين الفايروسي لنشاط GTPase إلا أنه ذو نشاط فسفرة ذاتي.

يرتبط مع عائلة ras عدد من المورثات التي تشفر البروتينات ذات وظائف غشائية شبيهة منها مورثات ral، mel وR-ras وتشفر هذه البروتينات يبلغ وزنها الجزيئي 23.5 و؟، 24 كيلو دالتين وتحتوي على تماثل مع بروتين مورثات ras يصل أحياناً إلى 55%.

المورثات المشفرة لبروتينات نووية:

تضم هذه المجموعة مورثات تعود للعائلة myc-family تضم عدداً من المورثات السرطانية الخلوية المهمة مثل N-myc C-myc، R-myc، C-myb، C-fos وC-ski ومورثات أخرى فايروسية لا يوجد لها نظائر خلوية مثل P53 ومورث T الكبير Large T fragment الخاص بفايروس Polyoma, SV40 وAdenoma V. EIA وPapyloma E6.

تشفر مورثات myc لبروتينات ترتبط مع الغشاء النووي حيث تتآصر كبروتينات ريبونووية Ribonucleic proteins (RBPs) مع الغشاء النووي جدول (12-1).

يبلغ الوزن الجزيئي للبروتين المشفر من المورث C- myc 49 كيلو دالتن له أهمية كبيرة في تضاعف الحامض النووي DNA وكذلك استنساخ الحامض النووي RNA. يعمل هذا البروتين على تنظيم عملية دخول الخلايا مرحلة Go إلى مرحلة تضاعف الحامض النووي DNA التي

تـدعى مرحلـة -S حيث يحفز مستواه العـالي الخلايـا للدخول إلـى مرحلـة التضــاعف S-phase. فقـد وجـد بـأن مسـتواه يكـون منخفضــاً فــي خلايــا المرحلة Go ولكنه يزداد في خلايا المرحلة G1 وS وتقترن زيـادة مستواه بزيـادة مستوى جميع البروتينـات النوويـة الأخـرى. إن معاملـة خلايـا Go بعامـل النمـو PDGF أو المحفـز الكيميـاوي TAP-12.0-tetradecanoy! Phoropol 13-acete. تـؤدي إلـى زيـادة تعبيـر المـورث C-fos خـلال 2-دقيقة بعد المعاملة ثم يزداد بعد ساعات من ذلك مستوى بـروتين المورث C-myc حيث تندفع بعدها الخلايـا نحـو مرحلـة G1 وS وقد سجلت كذلك زيادة في تعبير المورث C-myb. كما وجد بأن معاملـة خلايـا المرحلـة Go بالمضاد Anti-sense eligodeoxyribo nucleotids الذي يعمل على إيقاف تعبير المورث C-myc تؤدي إلى دخول هذه الخلايا إلى مرحلة Gi إلا أنها لا تتمكن أبداً من الدخول إلى مرحلة S مما يؤكد الدور المهم لبـروتين هذا المورث في دورة تضاعف الخلايا.

إن لعمليــة تنظـيم تعبيــر مورثـــات هـــذه المجموعـــة ذات أهميـــة فـــي تخصص الخلايا.

فقد وجد بأن معاملـة خلايـا Promyelocytic cells بـالمحفز TPA يؤدي إلى تحولها إلى خلايا مكروفاج Macrophage ويترافق ذلك مع زيـادة فـي تعبيـر المورثــات C- fos وC-fms وتوقـف تعبيـر المورثــات C-myc وC-myb فـــي حـــين يـــؤدي تحفيـــز هـــذه الخلايـــا بـــالمحفز -DMSO Dimethylsulfoxide
إلـى تحولهـا إلـى خلايـا محببـة ناضـجة Mature granulocytes مع توقـف المورث C-fos عن التعبير ووجـود مستوى مـنخفض مـن تعبيـر المـورث C-myb وC-fms.

كمــا تتخصــص خلايــا الفــأر النســيجية mouse tetracarcinoma بعـد معاملتهـا بالحـامض Retinoic acid إلـى خلايـا اندوديرميـة Endoderms ويترافق ذلك مع زيادة تعبير المـورث C-fos. أن ذلـك يـؤدي الـدور الآخـر التنظيمـي لهذه المورثـات فيتخصـص الخلايـا ممـا يؤكـد مـرة أخـرة أهميتهـا الخلوية.

إضـافة لمـا سبق فقد وجد بـأن زيـادة التعبيـر لأحد مورثـات هذه العائلـة (N-myc) يؤدي إلـى انخفـاض تعبيـر المورثـات المسـؤولة عن بروتينـات

المناعة (MGC) Major histocompatibatiblity Complex 1 التي لها أهمية كبيرة في تمييز المستضدات Antigens الغريبة وهو ما يفسر تحول السرطان Neuroblastoma إلى حالة الانتشار Metasiasize بسبب انخفاض تمييز الخلايا السرطانية من قبل الخلايا المناعية لانخفاض مستوى معقدات التطابق النسيجي بسبب زيادة تعبير المورث N-myc الذي يثبط المورثات المناعية ويوقفها تقريباً عن العمل جدول (9-1).

المورث السرطاني	الفايروس	النوع	البروتين	التأثير	الموقع الخلوي
Oncogene	Virus	Species	Protein product	Action	Subcellular localization
SRC family					
src	Rous sarc.v.[a]	Chicken	pp60	Tyrosine kinase	Plasma membrane[b]
yes	Y73 avian sarc.v.	Chicken		Tyrosine kinase	
ros	UR2 avian sarc.v.	Chicken		Tyrosine kinase	Cytoplasm, plasma membrane
rel	Reticuloendotheliosis v.	Chicken			
fes(fps)	Snyder-Theilen feline sarc.v. (Fujinami sarc.)	Cat (chicken)	p92(p98)	Tyrosine kinase	Cytoplasm, plasma membrane
fms	McDonough feline sarc.v.	Cat			
fgr	Gardner-Rasheed feline sarc.v.	Cat		Tyrosine kinase	
abl	Abelson murine leuk.v.[c]	Mouse	p150	Tyrosine kinase	Plasma membrane
mos	Moloney murine sarc.v.	Mouse			Cytoplasm
RAS family					
H-*ras*	Harvey murine sarc.v.	Mouse	p21	Tyrosine kinase binds GDP or GTP	Plasma membrane
K-*ras*	Kirsten murine sarc.v.	Mouse	p21		
Other					
myc v	Avian myelocytomatosis v. MC29	Chicken	p55	Binds DNA	Nucleus
myb	Avian myeloblastosis v. AMV	Chicken	p75		Nucleus
ets	Avian erythroblastosis v. E26	Chicken			
erb B	Avian erythroblastosis v.	Chicken	Truncated EGF[d] receptor	Growth factor receptor analog	Plasma membrane
fos	FBJ murine leuk.v.	Mouse	p55		Nucleus
raf(mil)	3611 Murine sarc.v. (avian MH2 v.)	Mouse (chicken)			
sis	Simian sarc.v.	Monkey	PDGF[e]B-chain	Growth factor analog	Cytoplasm

[a] Sarc.v. = sarcoma virus.
[b] Located on inner surface of plasma membrane.
[c] Leuk.v. = leukemia virus.
[d] EGF = epidermal growth factor.
[e] PDGF = platelet-derived growth factor.

جـدول 9-1: المورثــات الســرطانية الخلويــة والفايروســية وبعــض خصائصها العامة.

آليات تنشيط المورثات السرطانية الخلوية:

إن المورثات السرطانية الخلوية هي مورثات طبيعية موجودة في جميع خلايـا جسم الإنسـان وتقوم فـي الحالـة الطبيعيـة بوظائفهـا لخدمـة الخلايـا وجسم الإنسان عموماً. وقد تكلمنا سابقاً عن الدور الخلـوي لهذه المورثـات ووضحنا من خلاله أهميه هذا الدور. أنه وبلا شك أن هذه المورثـات ذات أهمية بالغة في السيطرة على الأنظمة الأنزيمية وبالتالي فإنها تعتبر ذات وظيفة غاية في الأهمية وأن حصول أية أضرار لهذه المورثـات يمكن أن يقلب حياة الخلايا رأساً على عقب ويؤدي فـي أغلب الأحوال إلـى تحويل الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية. ونظراً لاختلاف الأسباب التـي تؤدي إلـى تضـرر هذه المورثـات فقد قسمت آليات التنشيط غير الطبيعي لهذه المورثات إلى ستة آليات وهي:

1-التنشيط بالفايروسات.

2-التنشيط بالطفرات الوراثية.

3-التنشيط بالانتقال الكروموسومي.

4-التنشيط بالتضخيم المورثي وزيادة قوة التعبير.

5-التنشيط بالتآزر الوراثي لمورثين أو أكثر.

6-التنشيط بفقدان أو عطب المورثات الكابتة.

أولاً: تنشيط المورثات السرطانية الخلوية بالفايروسات:

يعتمد هذا النـوع مـن الآليـات المؤديـة للسرطـان علـى طبيعـة الفـايروس الـذي تتعـرض لـه الخلايـا ونوعـه حيـث أن العديـد مـن الفايروسـات مثـل الفايروسـات المرتـدة أو القهقريـة لا تحتـاج لتحويـل الخلايـا الطبيعيـة إلـى سرطانية إلـى تحفيز المورثـات السرطانية الخلويـة لأنهـا تمتلك مورثـات خاصة بها ذات قدرة سرطانية عالية جداً وكافية لإحداث السرطان والـذي غالباً مـا يكون سرطان سريع النمو والانتشـار. ومـع أن هذه الفايروسـات تغادر الخلايا بعد فترة من الإصابة إلا أنها غالباً ما تترك الخلايـا المصـابة غارقة في دوامة من الأخطاء الوراثية التي تتراوح ما بين الطفرة الوراثية المفردة إلـى الانتقـال الكروموسومي والتـي تعمل علـى ديمومـة السرطـان وانتشاره.

إلا أن هنــاك أنواعــاً أخــرى مــن الفايروســات الخاليــة مــن مورثــات السرطان الفايروسية لها القدرة على إحداث السرطان بأسلوب آخر. إن معظم هذه الفايروسات تستخدم ترددات النهاية (LTR) Long terminal repeats في تحفيز المورثات السرطانية الخلوية التي تعود للخلايا المصابة. إن ترددات النهاية الطويلة LTR مؤلفة من تردد نيوكليوتيدات يبلغ 280-1300 نيوكليوتيد تقع في النهاية الثالثة والخامسة لمجبن الفيروسات وتستخدم من قبل الفايروسات لغرض الالتحام مع المادة الوراثية للخلايا المصابة. كما أنها منظمات ومحفزات قوية جداً. تكمن قدرة هذه الأنواع من الفايروسات على إحداث السرطان في فرصتها للإلتحام بجانب أو بالقرب من مورث سرطاني خلوي. ونظراً للإعداد الكبير من الفايروسات التي تصيب الخلايا فإن فرصة التحام الفايروسات الأولية (Proviruses) (اسم الفايروسات بعد دخولها للخلايا) بالقرب أو بجانب المورثات السرطانية الخلوية يكون كبيراً.

كما شرحنا سابقاً في الفصول السابقة فإن لكل مورث تقريباً في الخلايا الحقيقية النوى منظماً يعمل على السيطرة على نشاطه. وغالباً ما يكون المنظم جزء من المورث أو بالقرب منه أو ربما يكون مورثاً آخر. لذلك فإن وجود ترددات النهاية الطويلة بالقرب من مورث السرطان الخلوي يضع الأخير تحت رحمته ويصبح المورث السرطاني تحت تنظيم الجزء الفايروسي وحيث أن الأخير محفز قوي لذلك فإن المورث السرطاني الخلوي سيتوهج ويعمل بصورة عالية جداً أكبر بكثير من مستوى عمله في الحالة الطبيعية. وبما أن معظم البروتينات المشفرة من قبل المورثات السرطانية الخلوية لها دور في الانقسام الخلوي لذلك فإن الخلايا البشرية بعد الإصابة بمثل هذه الفايروس تدخل مرحلة الإنقسام الخلوي السريع وغير المنظم تتحول بعدها إلى خلايا سرطانية.

تختلف سرعة تحول الخلايا إلى المرحلة السرطانية اعتماداً على نوع الفايروس حيث أن بعضها سريع النمو والآخر بطيء. ونظراً لاختلاف مواقع ارتباط ترددات النهاية الطويلة LTR مع المادة الوراثية الخلوية لذلك فإن نوع واحد من الفايروس يمكن أن يؤدي إلى الإصابة بأنواع مختلفة من السرطانات وذلك اعتماداً على المورث السرطاني الخلوي المحفز. فقد وجد مختبرياً بأن الإصابة بالفايروس ALV تؤدي إلى ظهور السرطان (Erythroleukemia) (في الدجاج والخلايا الحيوانية النسيجية)

وذلك عند ارتباط LTR الفايروسي بالقرب من المورث السرطاني الخلوي C-myc إلى ظهور سرطان B-cell leukemia عند التحام LTR بالقرب من المورث الخلوي: C-erbl.

إضافة لما سبق فإن مثل هذه الفايروسات يمكن أن تؤدي إلى السرطان نتيجة لعيوب وراثية أخرى غير المورثات السرطانية الخلوية المحفزة.

ثانياً: تنشيط المورثات السرطانية الخلوية بالطفرات الوراثية:

الطفرة الوراثية هي تغيير كيمياوي في المورث يؤدي إلى تغيير في البروتين المشفر منه (وكذلك تغيير في صفة ما في حالة ارتباط المورث في صفة مظهرية). يتضمن التغيير الكيمياوي تغيير في أزواج النيوكليوتيدات المؤلفة للمورث وقد يشمل هذا التغيير إحلال قاعدة نايتروجينية واحدة بدلاً من أخرى في نيوكليوتيد واحد أو في زوج من النيوكليوتيدات وقد يشمل مساحة مختلفة من المورث.

إن الطفرات الوراثية غالباً ما تكون عشوائية ولا يمكن التنبؤ في مواقع حصولها على المورثات. كما أنها في الغالب تكون ضارة وعادة ما تكون الآليات الطافرة محجوبة بالآليل الطبيعي ولا يمكن ظهورها إلا عند التقاء اليلين طافرين لنفس المورث.

كما أن معدل حصول الطفرة يعتمد على حجم المورث حيث يزداد معدلها في المورثات الكبيرة ويقل في المورثات الأصغر حجماً. فمثلاً تحدث الطفرة الوراثية التلقائية البشرية بمعدل طفرة واحدة لكل 100.000 مورث وهذا يعني أن هناك مورث طافر واحد على الأقل في كل دورة انقسامية ذلك أن معدل عدد المورثات على الكروموسوم البشري يساوي حوالي 100.000 مورث.

يرجع سبب حصول الطفرات الوراثية إلى عوامل مختلفة منها الكيمياوية والفيزياوية والبايولوجية وسنتحدث عنها بالتفصيل في فقرات لاحقة. كما يمكن الرجوع إلى التفاصيل في الفصل الخاص بالطفرات الوراثية في هذا الكتاب.

تمثل الطفرات الوراثية في المورثات السرطانية الخلوية نسبة كبيرة من أسباب ظهور نشوء السرطان بين 15-35% أو أكثر وينشأ معظمها بسبب التعرض للعوامل الكيمياوية. كما أن معظم الطفرات الوراثية

المسـجلة فـي السـرطان ترجـع إلـى عائلـة ras وتبلـغ نسـبة الطفـرات فيهـا حوالي 25% من مجموع الطفرات الوراثية المسجلة في أنواع السرطان.

فقد سجلت طفرة وراثيـة في المورت السرطاني الخلـوي C-k-ras فـي كاسينوما الرئـة والقولـون والمبـايض تـم فـي الطفـرة واسـتبدال الجلايسـين بالارجنين. كما سـجلت طفرات وراثيـة فـي محـاور 12، 13 مـن المورث C-N-rs في سرطان Fibrosarcoma (جدول 2-12).

وفي إحصائية حول دور هذه المورثات (ras) عائلة في نشوء السرطان فقد وجد بأن هناك نموذجين في سرطان المثانـة من مجموع 23 نموذجاً تحتـوي علـى مـورث C-N-ras ذو طفـرة وراثيـة. كمـا وجد بـأن هنـاك 11 نمـوذج مـن مجمـوع 27 نمـوذج مـن سـرطان المستقيم تحتـوي علـى طفـرة وراثيــة فــي المــورث C-K-cras. كمــا أن خمســة نمــاذج مــن عشــرة مــن سـرطانات الرئـة تحتـوي علـى طفـرة وراثيـة فـي نفس المـورث. أمـا فـي سرطانات الدم فقد وجد بأن المرحلة الأولى من سرطان الدم الحاد Acute mylogenoux L والتي تدعى باللوكيميا الأولية Myeloidy Plasia تحتـوي علـى طفـرة وراثيـة فـي أحـد أفـراد مورثـات عائلـة ras وتصـل نسـبة هـذه الطفرات إلى 50% في المرضى المصابون بهذا المرض (جدول 2-9).

إن الكثيـر مـن المـواد الكيمياويـة الخطـرة ذات تـأثير مسـرطن ويعمـل الكثيـر مـن هـذه الكيمياويـات علـى تحفيـز نشـاط المورثـات السـرطانية الابتدائية بالطفرات الوراثية.

المورث	مصدر المورث	الشفرات	نشوء السرطانات
		Codons	
ras Allete	Emax Source of allele	12 59 61	Focus Formation
C-H-ras	Normal human	GGC GCC CAG Gly Ala Glu	No
C-H-ras	Bladder carcinoma lines	GTC GCC CAG Bal Ala Gla	Yes
C – K - ras	Normal human	GGT GCC CAA Gly Ala Glu	No
C – K - ras	Lung carcinoma line	TGT GCC CAA Lys Ala Glu	Yes
N - ras	Normal human	GGT GCC CAA Gly Ala Glu	No
N - ras	Neuroblastoma lina	GGT GCC AAA Gly Ala Lys	Yes

جدول 9-2: بعض الطفرات الوراثية التي تحصل في عائلة المورثات السرطانية الخلوية ras.

فمركب N-nitrose- N- methylurea- NMU والمركب antheracene- DMBA7.12 dimethylbenz (a) يؤديان إلى الإصابة بالسرطان وخصوصاً سرطان الثدي والنيوبويلاستوما الناتجة عن طفرات وراثية في مورث السرطان الخلوي والمورث c-neu. أما العوامل الفيزياوية فيؤدي التعرض إليها غالباً إلى حصول السرطان الناشيء عن طفرات وراثية على هيئة دايمرات (مزدوجات قاعدية مثل مزدوج السايتوسين C-C والجوانين G-Gوغيرها) حيث تدخل هذه الديمرات في التضاعف مؤدية إلى حصول الطفرات الوراثية.

ثالثاً: تنشيط المورثات السرطانية الخلوية بالانتقال الكروموسومي:

تقترن أنواع متعددة من السرطانات بالانتقالات الكروموسومية التي تنشأ نتيجة كسور وإعادة التحام غير طبيعية لنفس الكروسومات المكسورة أو في أخرى غيرها. وتأتي أهمية مثل هذه الانتقالات الكروموسومية بأقترانها بعلامات Markers ثابتة ومميزة لأنواع معينه من السرطان. كما تأتي خطورتها في إمكانية حصول كسر كروموسومي بالقرب من موقع مورث سرطاني خلوي وعند حصول الانتقال الكروسومي فإنه من المحتمل وقوع المورث السرطاني الخلوي بالقرب من محفز قوي لمورث آخر وهذا يؤدي إلى تشغيل المورث ا لسرطاني بصورة غير طبيعية.

إن الكروموسومات البشريه تحتوي على العديد من المواقع الرقيقة والسهلة الكسر Fragile Sites وقد شخص العديد من المورثات السرطانية الخلوية بالقرب من هذه المواقع وتقع أحياناً فوقها مما يجعلها عرضة للوقوع تحت تنشيط غير طبيعي في حالة حصول كسور كروموسومية في هذه المواقع.

يعتبر مرض اللوكيميا المزمن Chronic Myelogenousl- CML أفضل الأمثلة على السرطان المترافق مع انتقال كروموسومي. ففي عام 1960 شخص كروموسوم غير طبيعي في خلايا الدم البيضاء لمريض مصاب باللوكيميا المزمنة سمي بكروموسوم فيلادلفيا. أعتقد أولاً بأن هذا الكروموسوم ناشيء عن قطع Deletion في الذراع الطويل لكروموسوم 22. إلا أنه بعد سنوات تبين بأن هذا الكروموسوم ناشيء عن انتقال كروموسومي بين كروموسوم 9 وكروموسوم 22 ووجد بأن هذا الانتقال يترافق مع 90- 95% من حالات اللوكيميا المزمنة.

بينـت الدراسـات الجزيئيـة لهـذا المـرض بـأن الانتقـال الكرومـوسـومي المرافق لهذا المرض يؤدي إلى وجود المـورث السـرطاني الخلـوي C-abl المحمـول علـى نهايـة الجـزء الخـاص بكرومـوسـوم 9 بـالقرب مـن منطقـة مورثات مناعية نشيطة جداً محمولة على النهاية الثانية لكروموسوم 22.

وهكذا فإن الانتقال الكروموسـومي أدى إلـى وقـوع المـورث السـرطاني الخلـوي C-abl تحت نفـوذ محفـز المورثـات المناعيـة القويـة Break point clusterregionsl (ber). وقد وجد بأن التعبير عن مورث C-abl يؤدي إلـى إنتـاج بـروتين هجـين يضـم بروتينـات مناعيـة مشـفرة مـن المورثـات مـع بروتين مورث C-abl. ومثـال آخـر علـى دور الانتقـال الكرومـوسـومي فـي تنشيط المورثـات السـرطانية الخلويـة هـو سـرطان لمفومـا بركتـا Burkitts الـذي يصـيب الغـدد اللمفاويـة. يـرتبط هـذا السـرطان مـع الانتقـال الكرومـوسـومي الـذي يشـمل الـذراع الطويـل بـين كرومـوسـوم 8. وآخـر لكروموسـومات 14 أو 2 أو 22 و أن تكـرار حصـول الانتقـال بـين كروموسوم 8 و14 الأكثر تكراراً فـي هذا السرطان ويصـل إلـى حـوالي 90%. لقد تبـين مـن الدراسـات الجزيئيـة لهذه الانتقـالات وجـود المـورث السـرطاني الخلـوي C-myc الـذي يقـع فـي الموقـع 24 مـن كرومـوسـوم 8 وهو موقع الكسر والالتحام في الانتقال الكروموسومي. كما شخص وجـود مورثـات مناعيـة عاليـة التعبيـر علـى بقيـة الكرومـوسـومات وبـالقرب مـن موقع الكسور والالتحام (شكل 9-1).

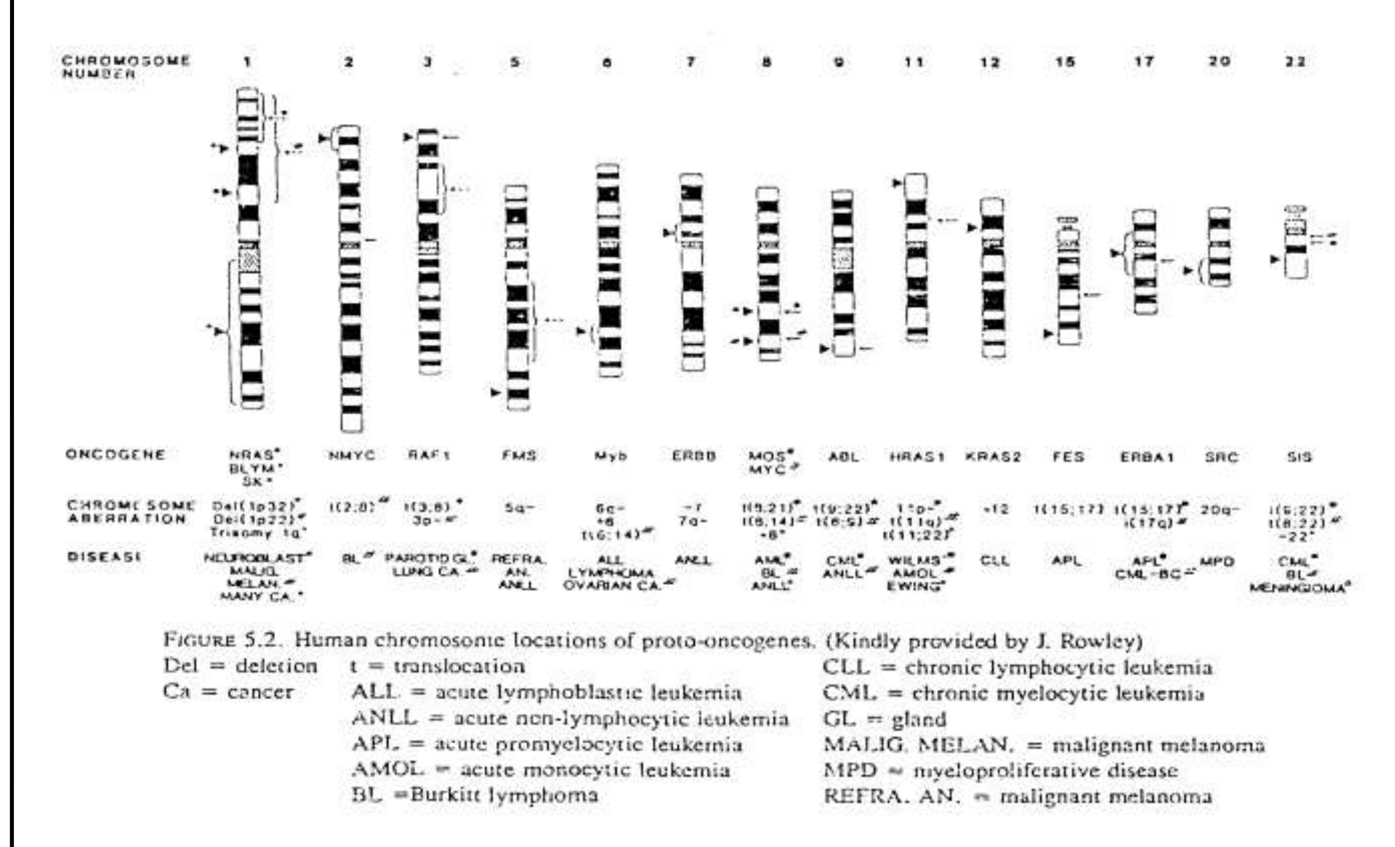


FIGURE 5.2. Human chromosomic locations of proto-oncogenes. (Kindly provided by J. Rowley)

Del = deletion t = translocation CLL = chronic lymphocytic leukemia
Ca = cancer ALL = acute lymphoblastic leukemia CML = chronic myelocytic leukemia
ANLL = acute non-lymphocytic leukemia GL = gland
APL = acute promyelocytic leukemia MALIG. MELAN. = malignant melanoma
AMOL = acute monocytic leukemia MPD = myeloproliferative disease
BL =Burkitt lymphoma REFRA. AN. = malignant melanoma

شكل (9-1): خريطة للكروموسومات البشرية توضح المواقع السهلة الانكسار ومواقع بعض المورثات السرطانية الخلوية بالقرب منها وكذلك أنواع السرطان الناشيء عن ذلك.

ويعتقد الآن بوجود تنشيط للمورث السرطاني الخلوي c-myc عن طريق محفزات المورثات المناعية وهو ما يؤدي إلى التعبير عن المورث c-myc بقوة تفوق ما هو في الحالة الطبيعية وأن حالة السرطان قد تترافق مع هذا النشاط.

ولا يزال تكتشف العديد من الانتقالات الكروموسومية ذات المعنى في أنواع أخرى من السرطانات.

رابعاً: تنشيط المورثات السرطانية الخلوية بتضخمها وزيادة تعبيرها:

تنشيط بعض المورثات السرطانية الخلوية عن طريق زيادة أعداد نسخها عن الحد الطبيعي ويدعى ذلك بالتضخم الجيني Gene amplification وقد يصل أعداد النسخ في مثل هذه الحالة إلى عشرات وربما المئات.

تلجأ الخلايا الطبيعية تحت بعض الظروف لتضخيم بعض مورثاتها الخلوية لسد بعض الاحتياجات الحياتية ولا تلبث أعداد نسخ هذه المورثات أن ترجع إلى عددها الطبيعي. وعلى الرغم من عدم معرفة آلية انخفاض عدد نسخ المورثات المتضخمة إلا أنه في حالة حصول لمورث سرطاني خلوي لسبب غير طبيعي فإن ذلك سيعرض حياة الخلية إلى الخطر واحتمال تحولها إلى خلية سرطانية.

تؤدي زيادة أعداد نسخ مورث ما إلى زيادة مستوى تعبيره وإذا ما اقترنت الوظيفة الفسلجية للبروتينات المشفرة من هذا المورث في دور انقسامي فإنه عندئذ لا بد من احتمال تدمير نظام السيطرة الانقسامي في الخلية.

يظهر التضخم الجيني بصورتين خلال تحليل الكروموسومات الأول يظهرعلى شكل مكورات مزدوجة حرة غير مرتبطة بالكروموسومات. تدعى هذه المكورات بالجسيمات المزدوجة Double Minutes–DMs. ونظراً لعدم أحتوائها على سنترومير لذلك فإنها تتوزع عشوائياً في الخلايا أثناء عملية الانقسام. أما الصورة الثانية التي يظهر عليها التضخم الجيني فهو

عبارة عن تضخم في موقع المورث حيث تزداد أعداده وتنتظم بـالقرب منـه وتظهـــر كمنـــاطق داكنـــة متجانســـة الاصـــطباغ تـــدعى (HSRs) Homeogencous staining regions.

يترافق تضخم المورثات السرطانية الخلوية مع بعض أنواع السرطان فسرطان النيوروبلاستوما يترافـق مـع تضـخم فـي المـورث السـرطاني الخلوي N-mye حيث تصل نسخ هذا المورث إلى أكثر من 100 نسخة. كمـا شـخص هـذا المـورث متضـخماً فـي بعـض حـالات الرتينوبلاسـتوما وكارسينوما الخلايا الرئوية الصغيرة.

كمـا شخصـت مورثـات سـرطانية خلويـة أخـرى متضـخمة فـي أنـواع أخرى من السرطان كما هو الحال في تضخم المورث السرطاني الخلـوي C-erb B2 الـذي سـجل فـي أكثـر مـن 30% مـن حـالات سـرطان الثـدي وبعض حالات كارسينوما العدد اللعابية.

خامساً: تنشيط المورثات السرطانية الخلوية بالتآزر الجيني:

إن بعض أنواع الخلايا غير الطبيعة تمتلك بعض المظـاهر السـرطانية إلا أنـها تفشل في الوصول إلى حالـة السـرطان. لـوحظ مثـل هـذا النـوع مـن الخلايـا كثيـراً فـي المـزارع النسـيجية وتـدعى مثـل هـذه الخلايـا بالخلايـا المتحولـة Transformed. وجد بـأن مثـل هذه الخلايا تحتـوي علـى ضـرر وراثـي معين غيـر كـافي لـدخولها إلـى حالـة السـرطان إلا أنهـا تـدخل هـذه المرحلـة حـال امتلاكهـا لضـرر وراثـي آخـر. أن الأبحـاث الجزيئيـة التـي أجريـت علـى هـذه الخلايـا بينـت أن بعضـها يتحـول إلـى السـرطان بسـبب حصول تآزر بين اثنين من المورثات السرطانية الخلويـة المتضـررة. كمـا بينـت هـذه الأبحـاث بـأن مثـل هـذا التـآزر يحصـل غالبـاً بـين أحد مورثـات العائلة ras والمورث C- mye.

وتبين بأن الخلايا المتحولة تمتلك في العـادة مورثـاً طـافراً مـن مورثـات العائلة ras والذي لا يكفي لوحده لدخول الخلايـا إلـى مرحلـة السـرطان إلا أنه يساعد فـي أظهـار الصـفات المظهريـة للخلايـا السـرطانية وأن حصـول تنشـيط ثـاني لمـورث C-mye كخطـوة ثانيـة يـؤدي إلـى تعزيـز المـورث الطـافر ras مما يدفع بالخلايا نحو حالـة السرطان. سجلت مثل هذه الآليـة في الكثير من التجارب التي أجريت على الخلايا الزرعية النسيجية إلا أنـه

لم يتم لحد الآن تحديد نوع من السرطان البشري يخضع لهذه الآلية أو ناتج عنها بسبب صعوبة تحديد مراحل السرطان.

سادساً: آلية فقدان أو عطب المورثات الكابتة للسرطان:

أنه من المعروف بأن بعض الطفرات التي تحدث في بعض المورثات يعود مرة أخرى إلى الوضع الطبيعي ويزول تأثير الطفرة بعد ذلك. يتم ذلك عن طريق حصول طفرة ثانية في نفس موقع الطفرة الأولى بحيث يعود الوضع الطبيعي كما كان قبل حصول الطفرة الأولى. تدعى مثل هذه الطفرات بالطفرات الراجعة Reversable mutaions. كما أن هناك طفرات ذات تخصص آخر حيث تقوم بعض الطفرات في السيطرة على طفرات أخرى سابقة لها وتدعى مثل هذه الطفرات بالطفرات الكابتة Supressor mutations. قد تحصل الطفرات الكابتة على نفس المورث الطافر أو في موقع آخر بعيد عنه. أن آلية الكبت التي تتم عن طريق هذه الطفرات غير مفهومة لحد الآن.

أما في السرطان فأنه هناك أدلة على وجود مورثات كابتة من نوع آخر تؤدي إلى كبت تحول الخلايا نحو السرطان. أن أول ملاحظة سجلت حول هذه المورثات هي في تجارب تهجين الخلايا الجسمية حيث لوحظ بأن الاندماج بين خلايا طبيعية وأخرى سرطانية يؤدي إلى تكوين خلية هجينة حميد ة مما يؤكد بأن السرطان هو صفة راجعة Rccessive trait.

شخص حصول قطع Deletion في الموقع 14 من كروموسومي 13 أو في أحداهما في سرطان الرتينوبلا ستوما وقد وجد بأن ذلك يترافق مع انخفاض مستوى أنزيم الاستريز Esterase D-D أو اختفاءه ويعتمد ذلك على شمول القطع فرد واحد أو زوج من كروموسومات 13. وقد وجد بأن ذلك يرجع إلى اختفاء مورث rb-1 المشفر لأنزيم الاسيتريز D والذي يقع في الموقع 14 من كروموسوم 13 حيث ينخفض مستوى أنزيم الاستيريز D في حالة اختفاء فرد من هذا المورث وتوقف إنتاج الأنزيم في حالة اختفاء زوجي المورث rb-1 بسبب القطع في كلا زوج كروموسوم 13. لقد تبين من خلال الفحوصات السايتولوجية والجزيئية لخلايا هذا المرض بأن حالة السرطان تترافق مع حالة وجود آليل غير طبيعي بمفرده وهذا ما يثبت بأن الاليل الطبيعي الآخر هو مورث كابت للسرطان.

أمـا فـي سـرطان ويلمـز Wilms tumour الـذي ينشـأ فـي الكلـى خـلال مرحلــة الطفولــة فقـد وجـد بأنــه يترافـق مـع قطـع فـي الموقـع 13 مـن كروموسوم 11. ويعتقد بأن موقع القطع يضم مورثاً كابتاً للسرطان.

الموت المبرمج للخلايا والسرطان Apoptosis and Canar:

تمتلك الخلايا الاعتيادية برامج وراثية معينة يتم العمل بها حال تعرض الخلايا إلى أضرار يصعب أصلا حها أو وصولها إلى الشيخوخة أو حتى تعرضها لضغوط فسلجية أو غيرها ويؤدي تشغيل هذه البرامج إلى انتحار الخلايا وموتها وهو ما يدعى بالموت المبرمج للخلايا Apoptosis.

إن الآلية التفصيلية لهذه البرامج غير معروفة كلياً إلا أنه تم الكشف عن عدد من المورثات التي يعتقد بأنها تقود إلى انتحار الخلايا.

ففي أوائل التسعينات اكتشف أن نهايات الكروموسومات البشرية تحمل تجمعات من الحامض النووي DNA مرتبة على هيئة خرز أو حبات تعد ببضعة الالاف تدعى هذه تيلوميرات Telomeres. تفقد الخلايا الطبيعية حوالى 10- 20 من هذه التيلوميرات في كل انقسام خلوي وتبدأ بالموت بعد حوالي 100 انقسام خلوي حيث تفقد تيلوميرات كروموسوماتها. إن فقدان التليوميرات من نهايات الكروموسومات يؤدي إلى تهرئها وتفكك محتوياتها مؤدياً إلى موت الخلايا. ولا يعرف تفصيل ما يحدث بالضبط إلا أنه لوحظ بأن الخلايا السرطانية تحافظ على نليوميراتها دون نقصان مع دخولها لالاف الدورات الانقسامية.

في عام 1994 اكتشف كالفن هارلي وجود نشاط لأنزيم التيلوميريز Telomerase في الخلايا السرطانية. يعمل هذا الانزيم المثبط في الخلايا الطبيعية على إعادة بناء التيلوميرات التي تفقدها الخلايا السرطانية بعد كل انقسام وهو ما يفسر بقاء عدد التيلوميرات ثابتاً في الخلايا السرطانية.

لقد وجد بأن التثبيط الحاصل في إنتاج أنزيم التيلوميز في الخلايا الطبيعية له أهمية في الموت المبرمج للخلايا حيث وجد جيري شاي عام 1997 بأن الخلايا السرطانية توقظ المورث المشفر لأنزيم التيلوميريز مما يؤدي إلى إنتاج الأنزيم وهو ما يؤدي إلى إيقاف برنامج الموت المبرمج للخلايا كما وجد شاي بأن إفراز هذا الإنزيم يقترن مع أكثر من 85% من السرطانات التي درسها.

أن آلية الموت المبرمج للخلايا لا بد وأن تكون أكثر تعقيداً من ذلك ولا بد من اشتراك العديد من المورثات لاتمامها. وخلال الأعوام 1996-1998 شخص العديد من هذه المورثات منها لمورث P53 الذي يعمل بروتينه p53 على أيقاف الخلايا في مرحلة G1 لإعطائها الفرصة لإصلاح الأخطاء الوراثية التي قد تحصل أثناء عملية تضاعف الحامض النووي DNA. لقد وجد بأن مستوى بروتين P53 في الخلايا السرطانية منخفض جداً أو غير موجود وهو ما يسبب دخول الخلايا إلى الدورات الانقسامية دون توقف ودون إعطاء الفرصة لإصلاح الأخطاء الوراثية مما يزيد من هذه الأخطاء بزيادة عدد الدورات الانقسامية.

وفي عام 1997 شخص مورث آخر له علاقة بالمورث P53 دعي بالمورث P73 يعمل على تنشيط مورثات أخرى مستجيبة لبروتين P53 وتساعده في إيقاف الخلايا عند مرحلة G1. ويعتقد أيضاً بأن له دور ما في الموت المبرمج للخلايا. كما شخص المورث bcl-2 الذي وجد بأن زيادة التعبير عنه تؤدي إلى مقاومة الموت المبرمج مما يؤدي إلى إطالة عمر الخلايا.

أما المورث bax فأنه يعمل على قدح برنامج الموت المبرمج وهو بذلك يعمل بوظيفة معاكسة لنشاط المورث bcl-2 وجد بأن المورث Bax الذي يقع في المايتو كوندريا يعمل على تحفيز أطلاق السايتوكروم C الذي يعتبر إفرازه إشارة لبناء أنزيم محلل يدعى كاسبيس Caspase ينشط أنزيمات تحليل الحامض النووي (Dnase) وبـ RNA (RNase)، لذلك يسمى هذا الإنزيم منشط DNase و RNase.

وجد الباحثان اليابانيان أناري وساكاهيرا عام 1998 أن أنزيم كاسبيس يعمل على فك إرتباط مثبط أنزيمات DNase، RNase الذي يدعى ICAD عن الأنزيمات المحللة للأحماض النووي مما يطلق العنان لهذه الأنزيمات بالدخول إلى النوى وتحطيم الأحماض النووية وقتل الخلايا. كما وجد بأن المورث bcl-2 الذي تم الحديث عنه يعمل على إيقاف إنتاج السايتوكروم C مما يوقف عملية تحرر أنزيمات تحليل الأحماض النووي وإيقاف عملية الموت المبرمج للخلايا برمتها.

ومع توفير مثل تلك المعلومات إلا أن عملية الموت المبرمج للخلايا لا تزال غير واضحة حيث لم يتم تفسير موت الخلايا العصبية الذاتي التي تفشل محاورها العصبية بالوصول إلى الأنسجة التي يجب تعصيبها.

دور العوامل الكيماوية والفيزياوية والبايولوجية في نشوء السرطان:

لقد ثبت وبالنتائج الملموسة من الأبحاث العلمية التي لا تحصى بأن السرطان مرض يرتبط بصورة كبيرة مع عوامل خارجية أكثر مما هو متعلق بالأفرد ذاتهم. ويعتبر التلوث الناشيء عن الإساءة للبيئة والذي بدأنا بدفع ثمنه غالياً رأس الحربة في نشوء السرطان. فالملوثات الكيمياوية تعتبر الأكثر خطراً على الصحة العامة لانتشارها الواسع وانتقالها من وسط إلى آخر دون أن نتمكن من تحديدها. ويأتي هذا الانتشار بسبب استخدام هذه الكيماويات في شتى نواحي الحياة. فالمبيدات الحشرية والزراعية على سبيل المثال هي مواد كيماوية ذات خطورة أكيدة على الصحة العامة ويمكن أن تنتقل من مكان استعمالها إلى آخر بعيداً عن طريق الرياح والمياه وقد تنتقل إلى الإنسان عن طريق ما يتناوله من نباتات وغيرها من الأغذية.

كما أن فضلا ت المصانع الكيماوية من الأدخنة والفضلات السائلة لا تقل خطورة عن المبيدات بل أنها أوسع انتشاراً وأكثر ضرراً. وبعض الكيماويات المستخدمة في الأغذية كالحافظات والأصباغ ومخصبات النباتات والحيوانات وبعض العقاقير الطبية جميعها مواد ثبت خطورتها وارتبط البعض منها مع أنواع معينة من السرطان. إن الكثير من المواد الكيماوية يمكن أن يكون سلاح ذو حدين نافع وضار وإذا كنا نرى النافع منه فإننا بصعوبة ندرك ضررها الكبير. ذلك أننا نحتاج لوقت طويل لاكتشافه بالإضافة لطرقه غير المباشرة في الضرر إلا ما ندر.

فالتآكل في طبقة الأوزون الذي يحمي الحياة من الأشعة الكونية والفوق بنفسجية ناشيء عن الاستخدام السيء لكميات كبيرة من الغازات الفلورية الكلورية المستخدمة في التبريد والبخاخات خلال أكثر من سبعين عاماً ولم يتبين العالم خطورة هذه الغازات إلا بعد أن فتك سرطان الجلد بقاع معينة من الأرض. وهكذا أكتشفنا نفع هذه الغازات خلال فترة وجيزة إلا أننا لم نكتشف ضررها إلا بعد أن أصبح الخطر في ديارنا. وهذا هو حال الكثير من الكيمياويات.

لا يقتصر التلوث على الكيمياويات بل يتعد إلى المواد المشعة والعوامل البايولوجية فالمياه الضرورية للحياة ضرورية أيضاً لتبريد المفاعلات النووية وهكذا تنتج إلى جانب الطاقة المتولدة من المفاعلات الضخمة مياه ملوثة أما حرارياً أو أشعاعياً. ويمكن تصور حال الإنسان عندما يستخدم

مواد غذائية حيوانية أو نباتية مسقاة من هذه المياه أو كانت تعيش فيها. وما انفجار مفاعل تشرنوبل في أوكرانيا إلا واحداً من العديد من الحوادث التي غطت أكثر من 33% من سطح الأرض بالمواد المشعة الناشئة عن حوادثها. هذا بالإضافة إلى استخدام المواد الانشطارية النووية في الحروب القذرة وما أدت إليه من دمار في الحرث والنسل. أما العوامل البايولوجية التي تطلقها المعامل فإنها أدت إلى ظهور سلالات من الأحياء الدقيقة الممنعة والقادرة على غزو الجسم البشري دون أن تترك له فرصة للدفاع عن نفسه وهكذا ظهر الأيدز والأيبولا وظهرت سلالات جديدة من الفايروسات المرتدة التي يعتبر معظمها عوامل مسرطنة قوية.

ونظراً للخطورة الكبيرة المحدقة بنا من جراء هذه العوامل المختلفة فإنه حري بنا أن نعرف آلية الضرر الناشيء عن هذه المواد على جسم الإنسان والحيوان والنبات والبيئة لكي نستطيع على الأقل من أن نقدم النصيحة الصحيحة بتجنب آثارها على الصحة العامة ويمكن الرجوع حول ذلك إلى فصل الطفرات الوراثية ودور العوامل الكيمياوية والفيزياوية في نشوءها.

آلية انتشار النقائل السرطانية **Mechanism of cancer Metastasis**:

إن المشكلة الحقيقية في السرطان هو انتقاله من موضع إلى آخر ولو أن السرطان عبارة عن ورم ثابت لكان استئصاله جراحياً شافياً للمريض ولكن المشكلة السريرية هو انتقال بعض خلاياه عبر الدم وجهاز اللمف إلى مواقع أخرى لتأسيس أورام سرطانية أخرى عندئذ فإن السباق مع السرطان نادر ما يفوز به المريض. أن النظرة السابقة للسرطان كانت هي أن الأورام السرطانية تتوسع وتمتد في نموها لتستعمر الأنسجة والعقد اللمفاوية المجاورة وأن المستعمرات السرطانية البعيدة تنشأ بصورة مستقلة عن الورم الأول – بمعنى أن وجود عدة مواقع سرطانية لا يرجع إلى انتقال خلايا ورم واحد إلى مواقع أخرى بل أن كل منها ينشأ بصورة مستقلة.

إلا أنه في عام 1929 بين الطبيب الفرنس ريكاميه أن ظهور الأورام الثانوية يعود إلى انتقال الخلايا السرطانية للورم الأول عبر الدوران واللمف إلى المواقع الأخرى. وقد ابتكر هذا الطبيب طريقة خاصة لمنع انتشار سرطان الثدي عن طريق استعمال الرباط الضاغط ظناً منه أنه يعيق بذلك انتشار الورم.

إلا أن الأبحاث الحديثة بينت أن القائل على عكس الفرضيات السابقة هي عملية نشيطة ولا تحدث مصادفة كنتيجة لنمو الورم.

والحقيقة أن الانتقال الخلايا السرطانية ليس بالعملية السهلة بل هي عملية شاقة وطويلة بحيث لا يستطيع البقاء على قيد الحياة منها إلا عدد ضئيل جداً يقدر بخلية واحدة لكل 100.000 خلية منتقلة. تبدأ هذه بالالتصاق في موقع ملائم ثم تنمو لتحرض نمو أوعية دموية جديدة لتزويدها بما يلزمها من مواد غذائية وغيرها وهو ما يدى بالتكوين الوعائي Angiogenesis. ولا يقتصر دور الأوعية الدموية الجديدة على تزويد كتلة الورم بالغذاء بل أنها تعتبر موضع لتفريغ أعداد من النقائل السرطانية في الدورة الدموية. تموت معظم النقائل خلال دورانها في الدم ولا يبقى منها سوى تلك التي تغلق الأوعية الدموية الضيقة أو التي استقرت في قاع وعاء دموي والتي تكون قد شكلت مستعمرات صغيرة جديدة. واستناداً إلى تشريح الدوران فإن القائل تستمر في سيرها في الأوردة والدوران اللمفي إلى أن تجد مكاناً مناسباً تستقر فيه. وقد تبين أن 60% من النقائل السرطانية تستقر في الرئتان بينما يعتبر الكبد المكان الرئيسي لاستقرار نقائل سرطان القولون لأن الكبد يستقبل التصريف الوريدي مباشرة من القولون (المعي الغليظ). وقد تنشأ أورام في مواقع متعددة حتى مواقع غير متوقعة نتيجة وجود تربة مناسبة للنمو كأن يتوفر هرمونات أو عوامل حاثة للنمو أو تراكيز محرضة من البروتينات.

كان يعتقد بأن عملية هروب الخلايا النقيلة السرطانية من الورم هو نتيجة للضغط الحاصل في الورم بالإضافة إلى عدم ميل الخلايا السرطانية إلى الانضمام لبعضها البعض. إلا أن هذا الاعتقاد لا يفسر وجود سرطانات كبيرة وذات ضغط داخلي عالي وغير منتقلة مثل سرطان الرحم Leiomyomas of the uterus وذلك ما يدفع للاعتقاد بأن عملية غزو الخلايا لا بد وأن تكون عملية معقدة وقد يكون الضغط الداخلي للورم الأول سبباً واحداً في ذلك. لا بد للخلايا المنتقلة أن تواجه العديد من الحواجز الطبيعية خارج الورم قبل استقرارها. فالحاجز الأول هو طبقة الأنسجة المحيطة بالورم وجدران الأوعية الدموية واللمفاوية والأنسجة التي تنمو فيها الخلية النقيلة. لقد وجد من التجارب والبحوث التي أجريت حول انتقال الخلايا السرطانية أن النقائل لا تنتقل من الورم إلى مواضع أخرى عبر الأنسجة المجاورة بل تنتقل مباشرة عبر شبكة الأوعية الدموية المغذية للورم وهذا يعني أن معظم النقائل تأتي من الخلايا السرطانية المجاورة للأوعية وبهذا تكون النقائل قد اختارت طريقاً سهلاً واجتازتت

بذلك الحاجز الافتراضي الأول. أما الحاجز الثاني فهو جدران الأوعية الدموية. أن النقائل تدور في الدم كما قلنا حتى تسد وعاء دموياً ضيقاً منشأة بذلك مستعمرة سرطانية جيدة وهي بذلك اختصرت اختراق الحاجز الثاني. أما الخلايا التي تخترق الأوعية الدموية فأنها تبدأ أولاً بالاستقرار في قاع الوعاء الدموي ثم تبدأ بثقب الوعاء للنفوذ إلى الأنسجة المجاورة. إن عملية ثقب الوعاء الدموي تبدأ أولاً باستقرار النقائل وقد وجد بأن طبقة الغشاء الداخلي الوعائي التي تقع تحت الناقل تبدأ بالانكماش كرد فعل لاستقرار النقائل عليه وعملية الانكماش هذه تعتبر عملية طبيعية تمثل تحفيزاً لكريات الدم المترسبة للاستمرار في الحركة والدوران إلا أنها تمثل بالنسبة للنقائل فرصة للاستقرار والتمسك بصورة أقوى بقاع الوعاء الدموي. ويتم بعدها أفراز أنزيمات محللة للأوعية الدموية.

ولا تنفرد الخلايا السرطانية النقيلة بهذا السلوك الهجومي بل أن الخلايا الطبيعية يتوجب عليها أن تغزو نسجاً أخرى من وقت إلى آخر مثل هجوم الكريات البيضاء عند أنغراز المشيمة في جدار الرحم وأثناء تشكل الأعضاء في المضغة. وفي هذه الحالة فإنه يحتمل أن تكون آلية الغزو في الخلايا الطبيعية هي نفس آلية الخلايا السرطانية النقيلة مع بعض الاختلاف. فالسلوك الهجومي للخلايا الطبيعية يزول بعد زوال المحفز بينما تستمر الخلايا النقيلة في ترحالها واختراقها الأنسجة بثبات. وقد وجد بأن زيادة ميل الخلايا النقيلة للغزو والهجرة يعتمد على إنتاج مجموعة من الأنزيمات الحالة التي تدعى ميتالوبروتينيز Metalloroteinases (مجموعة من الأنزيمات تقوم بتحليل الأنواع المختلفة للكولاجين).

إن أنزيمات الميتالوبروتينيز تكون دائماً في مستوى عال في الخلايا السرطانية النقيلة مقارنة بمستوى منخفض في خلايا السرطان غير النقيلي والخلايا الطبيعية. ولكن يرتفع هذا المستوى في الخلايا البيضاء عن اختراقها للأنسجة وهو ما يفسر دور هذه الأنزيمات في اختراق الخلايا للأنسجة وقد عرف الآن ثمانية أنزيمات من عائل الميتلوبروتينيز ووجد بأن هذه الأنزيمات تحتوي على نهاية مؤلفة من تسلسل لحامض السستين (Cysteine) تلتف على الموقع الفعال للانزيم لكبت نشاطه وتتحرر بعيداً عنه عند النشاط. كما أن هناك احتمالاً بوجود أنماط أخرى من الكبت لهذه الأنزيمات. ويعتقد بأن الخلايا السرطانية النقيلة قادرة على إنتاج مواد تعمل على فصل الجزء المنظم للأنزيمات السابقة أو على الأقل كبت

الجزء الفعال منها (الذي يرتبط مع الموقع النشط) وهو ما يجعل هذه الأنزيمات نشطة دائماً.